ÉCOLE NATIONALE VETÉRINAIRE DE TOULOUSE

ANNÉE 1972 — No 41

LE MELANOCYTE

THESE

POUR LE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

(DIPLOME D'ÉTAT)

Présentée et soutenue publiquement en mars 1972

DEVANT

L'UNIVERSITÉ PAUL-SABATIER DE TOULOUSE

PAR

GREMILLET Jean-Pierre

né le 7 juillet 1944 à LUNÉVILLE (Meurthe-et-Moselle)

Jury :

Président M. BROUSSY, Professeur à l'Université Paul-Sabatier de Toulouse

Assesseurs M. VAN HAVERBEKE Prof. à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

M. PAVAUX, Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

TOULOUSE

IMPRIMERIE DU VIGUIER

6, rue Ninau, 6

—

1972

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

LE MELANOCYTE

ÉCOLE NATIONALE VETÉRINAIRE DE TOULOUSE

ANNÉE 1972 — No 41

LE MELANOCYTE

THESE

POUR LE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

(DIPLOME D'ÉTAT)

Présentée et soutenue publiquement en mars 1972

DEVANT

L'UNIVERSITÉ PAUL-SABATIER DE TOULOUSE

PAR

GREMILLET Jean-Pierre

né le 7 juillet 1944 à LUNÉVILLE (Meurthe-et-Moselle)

Jury :

Président M. BROUSSY, Professeur à l'Université Paul-Sabatier de Toulouse

Assesseurs M. VAN HAVERBEKE Prof. à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

M. PAVAUX, Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

TOULOUSE

IMPRIMERIE DU VIGUIER

6, rue Ninau, 6

—

1972

MINISTERE DE L'AGRICULTURE

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur ..... M. FLORIO
Directeurs Honoraires .. MM. PONS
DARRASPEN

Professeur Honoraire: M. LOMBARD

PERSONNEL ENSEIGNANT

Chaire de Pharmacie et Toxicologie :
Professeur titulaire ..... M. GODFRAIN
Maître-Assistant ..... Mme BURGAT-SACAZE
Pharmacie et Toxicologie

Chaire de Physique et Chimie Biologiques et Médicales :
Professeur titulaire ..... M. RICO
Physique biologique et médicale
Chimie biologique et médicale

Chaire d'Anatomie des Animaux Domestiques :
Professeur titulaire ..... M. PAVAUX
Anatomie descriptive - Extérieur
Anatomie appliquée - Tératologie

Chaire de Physiologie et Thérapeutique :
Professeur titulaire ..... M. RUCKEBUSCH
Maître-Assistant Agrégé .. M. FARGEAS
Physiologie - Thérapeutique et Pharmacodynamie

Chaire d'Histologie - Anatomie Pathologique :
Professeur titulaire ..... M. VAN HAVERBEKE
Maître de Conférences, non chef de Service, Prof. sans Chaire ..... M. CABANIE
Maître-Assistant ..... M. MAGNOL
Histologie - Embryologie - Anatomie Pathologique

Chaire d'Hygiène et Industrie des Aliments d'origine animale :
Professeur titulaire ..... M. LABIE
Maître-Assistant ..... M. EECKHOUTTE
Hygiène, Inspection, Contrôle et Technologie des denrées alimentaires d'origine animale

Chaire de Parasitologie et Maladies Parasitaires :
Professeur titulaire ..... M. BRIZARD
Maître-Assistant Agrégé .. M. DORCHIES
Zoologie appliquée - Parasitologie externe
Parasitologie interne - Clinique

Chaire de Sémiologie et Pathologie Médicale des Equidés et Carnivores :
Professeur titulaire ..... M. FLORIO
Maître de Conférences, non Chef de Service, Prof. sans Chaire ..... M. LESCURE
Maître-Assistant ..... M. GUELFI
Sémiologie et Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores - Législation Vétérinaire et Déontologie Clinique

Chaire de Pathologie Médicale du Bétail et des animaux de basse-cour :
Professeur titulaire ..... M. TOURNUT
Maître de Conférences, non chef de Service, Prof. sans Chaire ..... M. ESPINASSE
Maître-Assistant ..... M. BEZILLE
Sémiologie et Pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour - Clinique
Clinique ambulatoire

Chaire de Pathologie Chirurgicale :
Professeur titulaire ..... M. CAZIEUX
Propédeutique et Sémiologie chirurgicale
Technique chirurgicale - Pathologie chirurgicale
Podologie - Clinique

Chaire de Pathologie de la Reproduction :
Professeur titulaire ..... M. BERTHELON
Maître de Conférences, non Chef de Service, Prof. sans chaire ..... M. ROYAL
Sémiologie et propédeutique
Pathologie de la Reproduction
Obstétrique - Clinique

Chaire de Maladies Contagieuses - Zoonoses - Législation Sanitaire :
Professeur titulaire ..... M. SAURAT
Maître-Assistant Agrégé.... M. CHANTAL
Maladies Contagieuses - Zoonoses
Législation Sanitaire

Chaire de Pathologie Générale - Microbiologie - Immunologie :
Professeur titulaire ..... M. LAUTIE
Maître-Assistant ..... M. MEIGNIER
Microbiologie - Immunologie
Pathologie Générale

Chaire de Zootechnie et Economie Rurale :
Professeur titulaire ..... M. QUEINNEC
Maître-Assistant ..... M. DARRE
Ethnologie - Génétique appliquée - Hygiène Générale
Zootechnie - Elevage - Economie Générale et des productions animales

Chaire d'Alimentation :
Professeur titulaire ..... M. FALIU
Maître-Assistant Agrégé .. M. GRIESS
Botanique appliquée et Bromatologie
Agronomie - Alimentation

COURS COMPLEMENTAIRES
CHARGES D'ENSEIGNEMENT

Antibiothérapie des Maladies infectieuses ..... M. MONNIER
Aspect médical des Zoonoses ..... M. ARMENGAUD
Energétique ..... M. LABOUCHE
Initiation à l'informatique biomédicale ..... M. FERNET
Agronomie ..... M. COMBRET
Métabolismes ..... M. RAYNAUD

La Faculté et l'Ecole déclarent n'être pas responsables des opinions émises par les candidats (Délibération de la Faculté, en date du 10 mai 1891 et du Conseil de l'Ecole, en date du 13 juin 1924).

UNIV. LEIDEN BIBL.

A FEU MON PERE

A MA MERE

Bien faible témoignage pour les sacrifices qu'elle s'est imposée pour moi.

A NOELLE

Dont le tendre soutien me fut si précieux.

A MES SŒURS

MEIS et AMICIS

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur BROUSSY
de la Faculté de Médecine de Toulouse.

Qui nous a fait le grand honneur d'accepter la Présidence du Jury de notre Thèse.
Hommages très respectueux.

A NOTRE JURY DE THESE

Monsieur le Professeur VAN HAVERBEKE

de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

Qui nous a proposé le sujet de notre thèse et nous a guidé dans son élaboration.

Nous lui exprimons notre respectueuse reconnaissance.

Monsieur le Professeur PAVAUX

de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

Que nous remercions d'avoir bien voulu accepter de faire partie de notre Jury de Thèse.

Hommages respectueux.

A Monsieur le Professeur CABANIE

Agrégé d'Anatomie Pathologique.

Avec qui nous avons réalisé cette thèse.

Nous lui exprimons notre respectueuse reconnais sance.

A Monsieur MAGNOL

Docteur-Vétérinaire,
Maître-Assistant d'Anatomie Pathologique.

Qui nous a aidé dans l'élaboration de cette thèse.

Hommages respectueux.

A tous nos Maîtres de l'Ecole de Toulouse.

A Monsieur l'Inspecteur GAUTIER

Inspecteur d'Académie - I.P.R. d'Anglais.

Que nous remercions pour ses conseils linguistiques éclairés et compétents.

Hommages de notre reconnaissance.

A Monsieur LABOUCHE

Docteur Vétérinaire, Docteur ès-Sciences,
Directeur du C.R.V. - I.N.R.A. de Saint-Martin-du-Touch.

Que nous tenons à remercier vivement pour l'enseignement qu'il nous a prodigué et pour l'aide efficace qu'il nous a apporté dans ce travail.

Hommages respectueux.

A Monsieur MORE

Chercheur I.N.R.A. au C.R.V. de Saint-Martin-du-Touch.

En témoignage de gratitude pour l'aide qu'il nous a accordée dans notre travail.

Nous exprimons nos sincères remerciements à toutes les personnes que nous avons pu consulter et qui ont ainsi contribué à l'élaboration de cette thèse.

PLAN

HISTORIQUE.

NOMENCLATURE.

CHAPITRE PREMIER

DEVELOPPEMENT DES MELANOCYTES

I. — *ORIGINE DES CELLULES PIGMENTAIRES CHEZ L'EMBRYON.*

1° *Réalisation de greffes cœlomiques*

2° *Etude préliminaire du développement normal de la crête neurale de la souris*

3° *Preuves expérimentales de l'origine des cellules pigmentaires à partir de la crête neurale.*

II. — *MIGRATION DES MELANOBLASTES.*

1° *La migration*

2° *Le mécanisme.*

III. — *DIFFERENCIATION.*

1° *Intervention de facteurs extrinsèques*

2° *Intervention de la surface cellulaire*

3° *Intervention de l'hypophyse*

4° *Intervention de la thyroïde et des hormones œstrogènes.*

IV. — *LOCALISATION.*

1° *Localisation tissulaire*

a) Ubiquité

b) Mécanisme

c) Evolution

2° *Localisation dans les groupes zoologiques*
a) Poissons
b) Amphibiens
c) Reptiles
d) Oiseaux
e) Mammifères.

CHAPITRE II

MORPHOLOGIE ET STRUCTURE DES MELANOCYTES

I. — *MORPHOLOGIE EXTERNE.*

1° *Matériel et méthode d'étude de la morphologie des mélanocytes*
a) Travaux de SHUKLA
b) Travaux de LÉVI
2° *Résultats. Morphologie des mélanocytes gingivaux humains*
a) Mélanocytes
b) Cellules de Langerhans
3° *Morphologie des mélanocytes cutanés de cobaye*
a) Observations
b) Morphologie du mélanocyte de cobaye
c) Morphologie de la cellule de Langerhans
d) Morphologie des cellules intermédiaires.

II. — *STRUCTURE DU MELANOCYTE.*

A. — LE MELANOCYTE.
1° Le hyaloplasme
2° Les systèmes membranaires
a) Membrane plasmatique
b) La membrane intra-hyaloplasmique
c) Les mouvements membranaires d'endocytose
3° *Les systèmes d'information et d'élaboration*
a) Le noyau

b) Les ribosomes
c) Ergastoplasme et reticulum endoplasmique
d) Appareil de Golgi
e) Cycle sécrétoire

4° *Systèmes énergétiques.*

B. — Le Melanosome.

1° *Définition et nomenclature de Sofia* 65

2° *Le mélanosome*

a) Structure et ultrastructure
— Le mélanosome d'après Drochmans
— Les grains de mélanine

b) Transfert des prémélanosomes
— Notion de transfert
— Différents types de transfert.

C. — La Cellule de Langerhans.

1° *Définition*

2° *Etude de la cellule de Langerhans*

a) Généralités
b) Ultrastructure
— Ultrastructure générale
— Le granule des cellules de Langerhans

CHAPITRE III

BIOCHIMIE DES MELANOCYTES : LA MELANOGENESE

I. — *LA MELANINE.*

1° *Définition*

2° *Etude des propriétés physiques*

a) Couleur
b) Morphologie
c) Solubilité
d) Absorption des mélanines
— Mélanine synthétique
— Mélanine naturelle

3° *Etude des propriétés chimiques*

a) L'analyse
b) La synthèse
c) Propriétés chimiques proprement dites.

II. — *LA MELANOGENESE.*

1° *Définition et historique*

a) Théorie homogène de BRESCHET
b) *Théorie parasitaire*
c) *Théorie cellulaire*

2° *Le substrat*

a) Tyrosine
b) Substrat autres que tyrosine

3° *Les enzymes*

a) *Généralités*
b) Phénoloxydases
c) Tyrosinases
— Rôle
— Extraction
— Propriétés et structure des tyrosinases
— Tyrosinases et ultrastructure

d) Péroxydases

4° *Le mécanisme de la mélanogenèse*

a) Généralités
b) Schéma
c) Mécanisme proprement dit
— Le substrat
— Oxydation de la tyrosine par la tyrosinase
— Cyclisation de la chaîne latérale

5° *Structure des mélanines*

Mélanines synthétiques
— Catecholmélanine
— Phénylalanine

b) Mélanines naturelles
— Généralités
— La mélanine du mélanome d'Harding Passey

6° *Site de la mélanogénèse*
a) Site histologique
b) Site cellulaire
— Différentes théories
— Discussion de ces théories
— Biosynthèse de la mélanine.

CHAPITRE IV

MOYENS D'ETUDE HISTOLOGIQUE DES MELANOCYTES

I. — *MOYENS D'ETUDE* IN VIVO

II. — *METHODES D'ETUDE EN COUPES.*
1° *Préparations histologiques classiques*
2° *Visualisation des noyaux*
3° *Technique d'étude mixte* « in vitro » *et* « in vivo » *des mélanocytes et de leurs mélanosomes.*

III. — *ETUDES HISTOCHIMIQUES.*
1° *Blanchiment des mélanines*
2° *Réactions histochimiques proprement dites*

A. — Reactions basees sur le caractere reducteur.
a) Réactions des sels d'argent ou « argentaffinité »
— Argyrophilie
— Argentaffinité
b) Réactions de réduction des sels ferriques
c) Autres réactions de réduction

B. — Reaction de capture des ions ferreux.
a) Principe et mécanisme
b) Spécifité
c) Procédés techniques

C. — Basophilie.
a) Généralités

b) Basophilie des mélanines
c) Technique.

D. — Reactions du noyau indole

E. — Autres reactions.
a) Réaction de Schiff
b) P.A.S.
c) Réactions négatives.

IV. — *DOPA-REACTION : ETUDE HISTOENZYMOLOGIQUE.*

CONCLUSION

CONNAISSANCES ACTUELLES SUR LES RAPPORTS ENTRE MASTOCYTE, CELLULE DE LANGERHANS ET MELANOCYTE

A. — Le probleme mastocyte/melanocyte.

B. — Le probleme des rapports entre cellule de Langershans et melanocyte.

1° *Arguments embryologiques quant au problème de l'origine de ces cellules.*
2° *Arguments de localisation*
3° *Arguments morphologiques*
4° *Arguments structuraux et ultrastructuraux*
5° *Arguments physiologiques*
6° *Arguments histologiques.*

HISTORIQUE

L'histoire du mélanocyte, à son origine, est indissociable de celle de la mélanine.

Hippocrate chez les Grecs, puis les auteurs gréco-latins mentionnent l'existence de tumeurs colorées, tumeurs que Celse fut le premier à qualifier de « nigricans ».

Highmore (1651) fit la première description détaillée d'une rate tumorale qu'il comparaît à un morceau de charbon.

Au XVIII[e] siècle, des lésions identiques furent signalées sur différents organes.

Laennec (1806) étudiant la « maladie noire » et ses différentes manifestations, les réunit toutes ensembles sous le vocable de mélanose.

Parallèlement dans le monde vétérinaire, de nombreuses observations et descriptions sont réalisées sur l'espèce équine, par Viborg à Copenhague et Brugnone en Italie.

Gollety Latournelle en 1809 à l'Ecole de Lyon décrivit un bouton noir para-anal sur un cheval de robe blanche. A la suite de la mort de ce cheval, il observa que l'affection ne se retrouvait que sur les seuls descendants ayant la même robe.

Virchow, Masson, Mary Rawles s'attachèrent à démontrer l'origine et la nature des mélanocytes.

Piettre (1911) [184] réalise les travaux princeps d'histochimie et de physiologie du mélanocyte en réalisant l'analyse chimique du pigment.

Mason précisa la structure chimique de la mélanine et sa production *in vitro*.

Bruno Bloch (1913) [35], Ropshaw (1933) [212], Lerner et Fitzpatrick (1950) [131] énoncent des théories sur le mécanisme de production des mélanines.

L'avènement du microscope électronique amena un grand nombre de chercheurs à étudier l'ultrastructure du mélanocyte, des cellules de Langerhans et des cellules intermédiaires de

Medawar. Citons parmi ceux-ci POIRIER en France, FITZPATRICK aux Etats-Unis, WOLFF en Autriche, SCULLICA en Italie, SHUKLA aux Indes.

DONNEL TURNER dans son ouvrage d'Endocrinologie Générale est le premier à réaliser une synthèse du domaine de la neurorégulation, de la mélanogénèse et du transit intracellulaire des pigments.

FINGERMAN en 1970 réalise une étude synthétique de la physiologie comparée des chromatophores, alors que, parallèlement, QUEVEDO pour les Mammifères, RALPH pour les Oiseaux, BAGNARA et HADLEY pour les Amphibiens et les Poissons, FUJII et NOVALES pour les Poissons et HADLEY GOLDMAN pour les Reptiles en réalisent l'étude par groupe zoologique en 1969.

NOMENCLATURE ET DEFINITION

1° *Au cours de la III^e conférence sur la croissance des pigments cellulaires,* de nombreux conférenciers avaient trouvé qu'il était nécessaire de bien préciser la définition des termes utilisés. En effet, par exemple les biologistes utilisaient le mot « mélanophore » pour qualifier les cellules étoilées contenant de la mélanine et qui sont responsables du changement de couleur chez les Reptiles, Amphibiens, Poissons et quelques Invertébrés. Un mélanophore était ainsi une cellule dans laquelle la matière colorante peut être soit dispersée à travers la cellule ou bien concentrée, cela dépendant de l'état physiologique de l'animal — ce conformément à l'utilisation du terme original italien « chromoforo », qui était utilisé par SANGIOVANNI en 1819. Par contre, quelques chercheurs suivant BLOCH, utilisaient le terme mélanophore pour un macrophage portant de la mélanine. Parce que le terme mélanophore littéralement traduit, signifie cellule transportant de la mélanine. D'autres enfin qualifiaient par ce vocable une cellule spéciale transportant des pigments, cellule complètement différente du macrophage.

C'est pourquoi il fut dès lors établi que :

— le mélanoblaste était une cellule potentiellement capable de produire de la mélanine ;

— le mélanocyte était une cellule mature contenant de la mélanine et en produisant ;

— le macrophage était une cellule contenant de la mélanine phagocytée ;

— le mélanophore était une cellule contractile fabricant du pigment chez les animaux inférieurs.

2° *Préalablement à la VI^e conférence* un questionnaire concernant la nomenclature avait été distribué. C'est l'opinion de la majorité des participants qui fut à l'origine des définitions retenues (FITZPATRICK, QUEVEDO et coll.) [84 et 239].

A. — CELLULES CONTENANT DE LA MELANINE

a) *Mélanocyte :* cellule qui synthétise un organelle spécialisé contenant de la mélanine : le mélanosome.

b) *Mélanophore :* type de mélanocyte qui participe avec d'autres chromatophores au changement rapide de couleur des animaux, par déplacement intracellulaire (agrégation et dispersion) des mélanosomes.

c) *Mélanoblaste :* cellule qui sert de précurseur au mélanocyte (et au mélanophore) à toutes les époques de la vie.

d) *Cellule de Langerhans :* cellule distincte de l'épiderme et du derme des Mammifères et qui est présumée appartenir à la série des mélanocytes. Elle est révélée par l'imprégnation à l'or et contient des organelles discoïdes non mélanisés.

e) *Albinomélanocyte :* cellule différenciée qui synthétise comme produit final des prémélanosomes non mélanisés ou partiellement mélanisés. La présence de ces cellules est responsable de l'albinisme.

B. — STADES ONTOGENIQUES DE LA FORMATION DE MELANINE

a) *Mélanosome :* organelle contenant de la mélanine dans lequel la mélanisation est complète. Il est plus ou moins dense au microscope électronique. Son activité tyrosinasique est non habituellement démontrable.

b) *Prémélanosome :* ce sont tous les stades particuliers et distincts de la maturation des mélanosomes. Sa densité aux électrons est variable. Il possède un système à activité tyrosinasique.

c) *Mélanosomes complexes :* Ce sont plusieurs mélanosomes groupés dans une matrice de soutien. On les rencontre dans les macrophages, et les cellules malpighiennes des Mammifères.

A la lecture de ces définitions on peut avec FITZPATRICK et QUEVEDO constater que :

— Le terme mélanocyte est proposé pour qualifier d'une façon générale les cellules qui produisent de la mélanine.

— Mélanoblaste. Un mélanoblaste devient un mélanocyte avec la formation de mélanosomes — Strictement parlant, un mélanoblaste qui peut synthétiser des prémélanosomes peut devenir un mélanocyte pendant la migration embryonnaire vers sa localisation définitive. Une telle cellule peut être appelée dès lors, *un mélanocyte migrateur.*

— Albinomélanocyte. Dans des organismes à certains génotypes, un défaut de synthèse de mélanine conduit à la formation de prémélanosomes non mélanisés comme produit final. La présence de tels corps confierait le statut de mélanocyte aux cellules qui les produisent.

A l'utilisation de cette nomenclature doivent s'ajouter des qualificatifs traduisant la localisation régionale. Les différences régionales dans la localisation des mélanocytes et mélanophores peuvent être indiquées par l'utilisation des adjectifs anatomiques appropriés. Par exemple : mélanocytes de la rétine autrefois appelés :

soit < (cellules pigmentaires rétiniennes / (cellules épithéliales pigmentées

pourraient être décrites comme mélanocytes rétiniens. De même < (mélanocytes épidermiques (pour l'épiderme) / (mélanocytes dermiques (pour le derme).

Les termes mélanophage et macrophage sont éliminés de la terminologie actuelle. Le macrophage étant une cellule accidentellement pigmentée dans laquelle l'incorporation de grains de mélanine n'est qu'une expression de son activité phagocytaire générale.

En outre, la plus grande partie des scientifiques sont favorables à l'incorporation de la cellule de Langerhans dans la terminologie proposée. Cependant deux thèses s'affrontent : celle de SHUKLA et celle de BREATNACH. Ce problème sera évoqué dans le dernier chapitre consacré aux rapports existant entre les mélanocytes et les mastocytes d'une part, et les cellules de Langerhans d'autre part.

3° A cette nomenclature dite établie par la VI[e] conférence de « Sofia 65 » est venue s'ajouter une notion nouvelle, il s'agit de *l'unité mélanique épidermique* (U.M.E.) (MC HADLEY et QUEVEDO) [101].

Les mélanocytes sécrètent fréquemment des granules de mélanine dans les cellules les entourant. Si bien que l'on définit l'unité mélanique épidermique comme l'ensemble formé par le mélanocyte émetteur de mélanine et tous les kératinocytes récepteurs de mélanine.

L'unité mélanique épidermique des Vertébrés est un additif utile à la nomenclature et devrait amener une nouvelle lumière sur l'action intégrée de ces différents types de cellules associées à la coloration tégumentaire.

L'extension de cette notion d'unité mélanique épidermi-

que à la pigmentation viscérale et au transport leucocytaire de la mélanine a été proposée par WASSERMAN [256]. En réalisant une étude sur les Amphibiens, il a constaté que lorsque la peau est peu épaisse le dépôt de mélanine est surtout viscéral et inversement. Le dépôt viscéral maintient le taux de la mélanogenèse et le système leucocytaire semble assurer le transport de la mélanine.

CHAPITRE PREMIER

DEVELOPPEMENT DES MELANOCYTES

I. — *ORIGINE DES CELLULES PIGMENTAIRES CHEZ L'EMBRYON*

Alors que les mélanocytes et les mélanophores des Vertébrés ont été décrits depuis presque un siècle, ce n'est que depuis quelques années seulement, que grâce à l'utilisation de méthodes expérimentales, leur nature exacte et leur origine sont mieux connues.

RAWLES [203] a découvert que les tissus embryonnaires de souris croissaient et se différenciaient normalement dans la cavité cœlomique des embryons de poussins. La même technique a été utilisée parallèlement et avec succès par EASTLICK et RIS [75] (cités par RAWLES) pour les cellules pigmentogènes d'oiseaux.

1° *Réalisation de greffes cœlomiques.*

Il s'agit de la transplantation de portions de régions axiales d'embryons à des différents stades de développement, dans le cœlome d'embryons hôtes (poussins Leghorn blancs) d'approximativement 2 jours et demi d'incubation. Les transplantats sont introduits dans la cavité cœlomique et sont attachés, soit au mur cœlomique, soit au mésentère et sont bien vascularisés par les vaisseaux sanguins du poussin hôte. La surface de la greffe est recouverte par le péritoine de l'hôte. Dans le cœlome, les tissus greffés peuvent continuer leur développement longtemps (17 jours et même plus si nécessaire), ce qui laisse largement le temps aux granules de se différencier à l'intérieur des mélanocytes.

2° *Etude préliminaire du développement normal de la crête neurale de la souris.*

D'après HOLMDAHL [114] (cités par RAWLES), chez la

souris, le développement est identique à celui des autres Mammifères (chat, lapin, rat, Homme) mais aussi des oiseaux (poussins, étourneaux). Elle survient très tôt dans le développement, disperse ses cellules et disparaît rapidement (3 jours).

La crête apparaît d'abord dans la région céphalique moyenne, peu de temps après la formation de la quatrième paire de somites et progresse vers la queue en même temps que les somites. Après la fermeture du tube neural, on constate une accumulation entre le tube neural et l'ectoderme sus-jacent, de cellules non organisées entre elles. De cette accumulation, des cellules commencent à partir de chaque côté dans deux directions :

— latéralement vers le somite, poussant entre lui et l'ectoderme ;

— ventralement le long et de chaque côté du tube neural.

En section transversale, ces deux plages de cellules montrent souvent une configuration bifurquée (en Y).

Les cellules de la crête se mélangent déjà à celles du mésenchyme du somite en développement et ne peuvent plus être discernées de celles-ci. En raison de la progression cellulaire, en vague, dans une direction antéropostérieure, et en raison du fait qu'à quelque niveau que ce soit, ces cellules terminent leur développement tardivement, la crête neurale n'a pu être trouvée chez les Vertébrés comme un corps continu s'étendant tout au long de l'embryon.

Au stade de 20 paires de somites, tous les stades de développement de la crête peuvent être trouvés dans la région du tronc.

1° Au début, la région la plus postérieure où la segmentation du mésoderme para-axial en somites est en train de se faire, la crête sera trouvée comme un corps discret supplantant la portion dorsale du tube neural.

2° Ensuite, elle sera trouvée dans sa phase migratrice avec des cellules se dirigeant latéralement et ventralement.

3° Enfin la crête aura terminé sa migration depuis le tube neural.

Les limites dorsales du tube neural sont maintenant définies et la crête n'est plus longtemps trouvée comme une structure morphologiquement définie. La région entre le tube neural et les somites est formée de mésenchyme amené à la fois par la crête et les somites, mais les deux composantes sont histologiquement indiscernables.

3° *Preuves expérimentales de l'origine des cellules pigmentaires à partir de la crête neurale,* décrites par RAWLES.

Pour obtenir la preuve que les cellules pigmentaires ont la crête neurale pour origine, il est nécessaire de relier leur présence dans les greffes avec le développement morphologique de la crêtre neurale aux différents âges et niveaux testés, et de montrer que seuls les tissus contenant de la crête neurale (ou ses cellules migratrices) peuvent produire du pigment.

Des données obtenues après plus de 200 greffes d'embryons de souris noir foncé homozygotes (souche C 57), ayant de 4 à 40 paires de somites, ont démontré clairement que seuls les tissus contenant de la crête neurale (crête, future crête, ou bien cellules originaires de la crête) peuvent produire des cellules pigmentogènes en greffe. La peau et les cheveux à structure normale se développent régulièrement mais restent entièrement apigmentés (blancs) à partir de greffons ne contenant pas de crête neurale.

A partir de tels résultats, on peut conclure que la peau (ectodermique) et ses dérivés (poils, cheveux) n'ont pas la capacité autonome de produire du pigment mélanique.

II. — *MIGRATION DES MELANOBLASTES*

Après avoir démontré que les cellules pigmentogènes ont la crête neurale pour origine, la question s'est posée de savoir comment elles aboutissent à la peau (et à ses dérivés), aux membranes viscérales dans lesquelles elles sont trouvées.

1° *La migration.*

Elle est difficile à étudier. En effet, jusqu'à ce que la synthèse de la mélanine commence, la cellule pigmentogène (mélanocyte) reste sans couleur, sans dentrite, et histologiquement indiscernable des autres cellules embryonnaires associées.

D'autre part, dès que la mélanogenèse s'instaure la migration ne se fait plus.

Les résultats de l'expérimentation sur les Amphibiens, Oiseaux et Mammifères, de DU SHANE [74], RAWLES et HÖRSTADIUS [117] (cités par RAWLES), sont en accord en ce qui concerne une migration précoce des mélanoblastes dans l'embryon.

Chez les Amphibiens, la capacité de migration est défi-

nitivement annihilée après la formation de mélanine (HARDY) [103] (cité par RAWLES).

En l'absence de critère cytologique valable pour reconnaître les cellules pigmentogènes dans leur état mélanoblastique précoce et apigmenté, leur trajet migrateur n'est pas connu avec précision. Il a été possible cependant, par l'utilisation de transplantations marquées et appropriées de montrer pour les embryons de poussins et de souris que :

— la direction de migration est dorsoventrale le long de l'axe antéro-postérieur ;

— des mélanoblastes ont atteint toutes les régions du corps au douzième jour de gestation (chez l'embryon de souris) et toutes les régions de l'embryon de poussin au quatrième jour d'incubation, longtemps avant qu'il y ait des signes visibles de pigmentation ;

— enfin, à part la migration à partir de la crête neurale, il n'y a pas d'observation qui montre une origine et une migration différentes, chez la souris ou les autres Vertébrés étudiés.

2° *Le mécanisme.*

Le mécanisme qui permet aux mélanoblastes d'atteindre la peau ainsi que d'autres localisations, n'est pas encore complètement élucidé. Les nombreuses études de TWITTY [249, 250, 251] citées par RAWLES sur les mélanoblastes d'Amphibiens, *in vitro* et *in vivo*, nous amènent à penser que l'initiative et la direction de la migration sont soumises pour l'essentiel aux influences exercées par les mélanocytes en développement, probablement par la libération de métabolites. En fonction de cette conception, des mélanoblastes continueraient à s'éloigner des mélanocytes voisins jusqu'à ce qu'ils aient échappé effectivement à leur champ d'influence.

ROSIN [214] (cité par RAWLES) a suggéré que les mouvements des mélanoblastes sont une réponse à une « *affinité tissulaire positive* » (au sens d'HOLTFRETER) existant entre l'épiderme, analogue à un chimiotactisme positif.

WEISS [259] (cité par RAWLES) quant à lui, en se basant sur les études d'orientation cellulaire *in vitro*, a montré l'importance des trajets physiques « guide de contact ».

Le fait que la direction et le trajet des mélanoblastes ne sont pas distribués au hasard mais sont des itinéraires plus ou moins prédéterminés dans le mésenchyme sous jacent, semblerait impliquer que leur mouvement est dirigé par des propriétés intrinsèques de la peau et par les interfaces de l'ectoderme et du derme.

De même le fait que les mélanocytes soient trouvés en premier lieu sur des surfaces membraneuses (couche basale de l'épiderme, membranes pariétales, méninges, endothéliums vasculaires, conduits urinaires et sexuels, etc.) pourrait avoir une signification identique.

Enfin dans la distribution finale des mélanocytes, les mouvements morphogénétiques et de croissance des tissus sous-jacents pourraient jouer un rôle.

RAWLES [200], d'après certains résultats obtenus à partir de peau greffée sur volaille montre que l'invasion de mélanoblastes est contrôlée par les bourgeons de la peau et des plumes. Lorsqu'une surface de peau a été expérimentalement privée de ses sources normales de mélanoblastes et qu'elle est greffée à l'éclosion sur un poussin hôte de même âge, des mélanoblastes étrangers à la greffe s'y rendent et s'y établissent. Or, d'après DANFORTH et FOSTER [64] (cités par RAWLES), une telle invasion n'a pas lieu lorsque la peau normale contient un contingent complet de mélanoblastes. Il apparaît donc que le nombre de mélanoblastes qui envahit une surface de peau est limité. (D'après WILLIER [263], cité par RAWLES). Mais le nombre définitif de mélanoblastes n'est pas contrôlé par eux-même en fonction de leur multiplication, mais plutôt par la communauté cellulaire de la peau. Ce taux constant peut ne pas être respecté temporairement lorsqu'il y a une régénération active en raison de l'invasion par ces mélanoblastes à partir des « réservoirs » voisins. Après cette invasion le taux pourrait être ramené à la normale par la multiplication des mélanoblastes à l'intérieur des réservoirs.

En ce qui concerne les cheveux et les poils, les cellules apigmentées (mélanoblastes) font leur première apparition dans les cellules en division rapide du bulbe pileux et d'après RAWLES le dépôt des grains de mélanine se fait dans les cellules voisines comme pour les mélanocytes épidermiques. D'après CHASE (cité par RAWLES) le réservoir de mélanoblastes est localisé dans la portion dermique de la papille. Enfin, d'après TAYLOR, cité par RAWLES, l'entrée des mélanoblastes dans l'organisation originale se fait au moment de l'organisation embryonnaire de l'épiderme et du derme.

III. — *DIFFERENCIATION*

1° *Intervention de facteurs extrinsèques.*

TWITTY et BODENSTEIN cités par RAWLES ont montré que les mélanoblastes des espèces de Triturus ne se différen-

ciaient pas entièrement *in vitro* en l'absence de liquide cœlomique.

2° *Intervention de la surface cellulaire.*

D'après FLICKINGER [86] (cité par DALTON), la transplantation de peau noire sur l'axolotl blanc provoque la migration des mélanoblastes seulement sur les flancs (ce qui n'est pas le cas d'un axolotl à peau blanche). Donc chez un axolotl blanc, il y a inhibition de la migration des mélanoblastes. Cette propriété est basée sur la structure de la surface cellulaire.

3° *Intervention de l'hypophyse.*

Le nombre de mélanocytes qui apparaît dans la peau est fonction du taux d'hormone hypophysaire. Cela a été prouvé par hypophysectomie d'axolotl par WORONZOWA [269] (cité par DALTON). Il a été constaté que :

1) Au départ il n'y a pas de différence avec les témoins, par contre, au sixième jour on note chez les opérés une plus forte concentration de pigments et au dixième jour toujours chez les opérés, on constate une ponctuation. Donc l'hormone hypophysaire n'intervient pas dans le contrôle du développement initial de pigment.

2) Chez l'axolotl noir hypophysectomisé, la distribution topographique des mélanocytes trois semaines après l'opération est la même que chez le génotype blanc.

Les mélanocytes des axolotls noirs sont très ramifiés, et sont appliqués étroitement à la membrane basale, ce qui n'est pas le cas chez les blancs. Cette différence est déterminée par le génotype des tissus environnants.

3) L'hypophyse joue un rôle dans le développement du mélanocyte. En fait, elle joue essentiellement sur les propriétés de surface des cellules, soit sur le mélanocyte seul, soit dans le contact avec les cellules voisines ou bien avec la membrane basale.

4) Rôle également dans la division des cellules différenciées, montré par PEHLEMANN [181], ainsi qu'un contrôle de la différenciation, alors que le même auteur [180] prouve que les mélanocytes gardent leur pouvoir de segmentation car le nombre absolu augmente au cours de la croissance.

4° *Intervention de la thyroïde et des hormones œstrogènes.*

Ce point a été étudié dans le cadre des interrelations de

facteurs variés dans la différenciation de la pigmentation de la plume chez la poule Leghorn brune par TRINKAUS [247].

Il faut pour cela que les mélanoblastes aient la capacité génétique de répondre aux hormones. TRINKAUS à partir de culture de tissu suggère que cette capacité peut être seulement exprimée en présence de follicule plumaire épidermique structuralement organisé.

— *Dans le cas de l'épiderme immature en l'absence des deux hormones.*

La production d'un type de pigment caractéristique des plumes du duvet de l'aile ou de la queue ne dépend que de la spécificité de l'épiderme.

— *Dans le cas de l'épiderme « mature ou mûr ».*

• *En l'absence des deux hormones* le type pigmentaire produit est celui d'un oiseau thyroïdectomisé. Le type « adulte hypothyroïdien ».

• Lorsqu'il y a *intervention de l'hormone thyroïdienne en l'absence d'œstrogènes,* ceci amène la différenciation d'un plumage adulte normal mâle ou du type chapon.

• Enfin quand il y a *intervention des deux hormones,* le type pigmentaire adulte femelle normal est obtenu. En outre, lors d'intervention de l'hormone œstrogène seule il n'y a pas de résultat.

Donc l'hormone thyroïdienne semble être nécessaire au mélanoblaste normal pour répondre aux œstrogènes. L'hormone œstrogène seule n'est pas cause de la différenciation d'un type normal femelle, mais plutôt d'un type aberrant : « type féminisé hypothyroïdien ».

Les différentes réponses aux œstrogènes liées au sexe, sont apparemment causées par une influence du génotype sexe sur la synthèse de l'hormone thyroïdienne. Cet effet est préalablement indirect.

Remarque :

Chez les Amphibiens, il est bien connu que la plupart des mélanoblastes qui sont restés quiescents pendant la vie embryonnaire commencent la synthèse de pigment à la métamorphose. D'autre part il est établi que la métamorphose est sous la dépendance de l'hormone thyroïdienne. Ainsi la différenciation des mélanoblastes en mélanophores se ferait également sous le contrôle de la thyroïde chez les Amphibiens.

IV. — *LOCALISATION*

1° *Localisation tissulaire.* Nous étudierons :

— ubiquité,

— mécanisme,

— évolution.

a) *Ubiquité :*

Comme le fait remarquer RAWLES, les connaissances actuelles suggèrent fortement que les cellules de la crête neurale migrent vers toutes les régions du corps.

MILLIOTT [158] et LYNN ont montré l'ubiquité de la mélanine en réalisant une étude sur des Amphibiens en utilisant la Phényl Thiourée (P.T.U.).

L'ubiquité est frappante chez les Amphibiens. Cela a déjà été rapporté chez Xenopus. D'après SIMS [230] (cité par MILLIOTT) mais aussi chez les larves :

- d'Amblyostome,
- de Rana pipiens,
- de Rana temporaria.

Ainsi en plus du pigment dermique, épidermique et oculaire il faut penser au pigment :

- du péritoine,
- du cœur,
- des endothéliums des gros troncs vasculaires,
- du pancréas,
- du tube neural et du cerveau (putamen, noyau rouge, etc.),
- des membranes labyrinthiques,
- de l'épithélium olfactif,
- des myotomes,
- des branchies,
- des corpuscules de cartilage.

D'après BALOGH [4] il existe de la mélanine au niveau de l'oreille interne des Mammifères. Cette mélanine de l'oreille interne du cobaye ferait partie du système de mélanocytes et serait sans relation avec la cochlée de l'audition.

Dans le système nerveux central, le pigment n'est pas présent seulement dans les méninges, mais également dans les ventricules cérébraux et le canal neural en grosses touffes

qui semblent se former par agrégation de granules émis par les murs. Exemple de Xenopus lœvis prouvé par expérience de MASSON sur le diencéphale.

b) *Mécanisme :*

Le fait que les mélanocytes soient formés en premier lieu sur des surfaces membraneuses semblerait avoir quelque signification. Dans la distribution finale des mélanocytes, les mouvements morphogénétiques et de croissance des tissus sous-jacents pourraient jouer un rôle.

c) *Evolution :*

— Pendant de nombreuses années on a vu que le système des cellules pigmentaires cutanées des *Vertébrés inférieurs* — Poissons et Amphibiens était principalement DERMIQUE — Le système étant « effecteur » et répondant aux incitations hormonales.

— En ce qui concerne les *Vertébrés supérieurs :* Mammifères et Oiseaux, on a considéré que le système avait une activité cytocrine et qu'il résidait dans l'EPIDERME et ses dérivés. Ici la fonction des mélanocytes est de donner de la mélanine aux cellules épidermiques contiguës et aux cellules de la matrice des cheveux ou des plumes. Il est difficile de comprendre comment la pigmentation dermique des Vertébrés ancestraux a donné le système épidermique élégant des Oiseaux et Mammifères.

— *Les Reptiles :* BADEN [2] réalise des coupes de routine de peau de serpent Drymarchon coraïs. Il constate un phénomène nouveau. En effet le système des mélanocytes semble être principalement dermique mais parfois l'on peut en voir dans l'épiderme. Les mélanocytes dermiques ont des fins prolongements dans l'épiderme passant au travers de la membrane basale et s'insinuant dans la couche basale de l'épiderme.

Ce stade pourrait être l'intermédiaire entre les systèmes des Vertébrés inférieurs et des Vertébrés supérieurs.

Il a été montré par SZABO et HADLEY qu'il y a un système de mélanocytes épidermiques chez quelques grenouilles d'Amérique du Nord. Ce cas des serpents serait significatif. Il n'en reste pas moins que cela poserait le problème de l'inviolabilité de la membrane basale des Vertébrés.

Enfin BADEN signale à juste titre que cela fournit un schéma de travail pour considérer comme un tout le système cellulaire pigmentaire de Vertébrés.

2° *Localisation dans les groupes zoologiques.*

a) *Poissons :*

D'après Baer [3] la peau des poissons renferme trois types de chromatophores et suivant la concentration des pigments superposés, laisse voir des couleurs simples ou combinées.

b) *Amphibiens :*

D'après Chen et Chavin [51] la répartition anatomique dans l'épiderme de Rana pipiens et Rana catesbiana est fonction de la répartition anatomique et cellulaire de l'activité tyronasique dans l'épiderme. On note des différences entre les régions ventrale, dorsale et latérale. Milliott et Lynn [158] en étudiant Rana pipiens et Xenopus lœvis font remarquer la présence de mélanine dans les organes les plus divers des Amphibiens.

c) *Reptiles :*

Baden et Szabo [2] étudiant Drymarchon coraïs émettent l'hypothèse d'une évolution dans la répartition cutanée des mélanocytes. Chez les Vertébrés inférieurs ils sont classiques, chez les Vertébrés supérieurs ils sont épidermiques, les Reptiles étant le groupe zoologique intermédiaire. Les mélanocytes sont dermiques mais la coloration épidermique est due à des dendrites.

d) *Oiseaux :*

Les mélanocytes cutanés sont épidermiques ou dans les plumes. La répartition est ubiquitaire mais Culzoni [60] a noté la présence de mélanocytes intraglomérulaires du rein de poulet.

e) *Mammifères :*

La localisation est classique maintenant, mais Machida et Perkins [142] en étudiant la distribution des mélanocytes mélanotiques dans la peau des Primates ont constaté qu'à quelques exceptions près quand l'épiderme est pigmenté, le derme est dépourvu de mélanocytes et vice versa. Ce qui est en contradiction avec Baden [2].

Enfin le nombre des mélanocytes augmente au fur et à mesure que l'on s'élève dans l'échelle phylogénétique.

En ce qui concerne les mélanocytes épidermiques (les plus importants) humains, Greep en a fait une étude de

répartition que POIRIER et NUNEZ-DISPOT [188] rapportent : les mélanocytes épidermiques sont situés dans le Stratum germinativum, entre les cellules basales et sont répartis dans tout l'épiderme y compris paumes et plantes, dans la proportion de 1 pour 4 à 12 cellules basales. Ce résultat a été obtenu en combinant des méthodes de digestion enzymatique partielle, séparant le derme et l'épiderme intact, suivies d'une coloration par la DOPA, visualisant les mélanocytes et permettant leur dénombrement.

Leur densité varie selon la localisation (d'après GREEP - 1960).

Tête	1 930	±	60	
Tronc	890	±	90	
Bras	1 160	±	40	par mm2 de
Jambes	1 130	±	60	surface cutanée
	1 560	±	110	

Il existe donc approximativement 1 000 à 1 500 mélanocytes par millimètre carré de surface cutanée.

Ces mélanocytes sécrètent le pigment mélanique qui ensuite sera dispersé de façon variable dans les cellules voisines des Stratum germinativum et spinosum pour être finalement éliminé avec elles lors de la desquamation physiologique.

En conclusion, les chromatophores des Vertébrés se différencient à partir de cellules (mélanoblastes) qui migrent de la crête et des plaques neurales. Chez les Amphibiens on a constaté que des cellules autres que les mélanoblastes peuvent se transformer en cellules pigmentaires.

Dans la différenciation, plusieurs facteurs entrent en jeu, des facteurs génétiques, hormonaux et biochimiques. Parmi les facteurs hormonaux, l'intervention de l'hypophyse a été mise en évidence chez les Amphibiens, celle de la thyroïde et des œstrogènes l'a été chez les Oiseaux.

Enfin PONOMARYOVA [189] en réalisant une étude expérimentale en milieu de culture sur mélanocytes de l'iris, pense que le processus de différenciation et son degré dépendent principalement d'une composition stable du milieu. La répartition est ubiquitaire, mais préférentielle aux couches cellullaires membranaires.

Les mélanocytes constituent l'étape terminale chez les Oiseaux et les Mammifères. Au contraire, chez les Poissons

et peut-être chez les Amphibiens et les Reptiles, les mélanoblastes se transforment en cellules pigmentaires effectrices appelées « mélanophores ». HADLEY et QUEVEDO [101] ont signalé qu'à ce sujet la nomenclature devait être revue.

CHAPITRE II

MORPHOLOGIE ET STRUCTURE DES MELANOCYTES

I. — *MORPHOLOGIE EXTERNE*

Les mélanocytes doivent être démélanisés pour que l'on puisse étudier leur morphologie et leur structure.

1° *Matériel et méthode d'étude de la morphologie des mélanocytes.*

Les travaux de deux auteurs sont à l'origine des connaissances actuelles sur la morphologie des mélanocytes.

a) *Travaux de SHUKLA* (Cobaye) [227] :

— Prélèvement soit de la peau noire de la surface dorsale de cobayes noirs et blancs ; soit d'épiderme des régions auriculaires, digéré dans une solution à 0,5 % de Trypsine (technique de Medawar).

— Isolement des cellules de Langerhans et des mélanocytes d'une plaque épidermique pure digérée dans une solution saline de 3,4 - dihydroxyphenylalaline (DOPA) d'après la technique de SHUKLA-KARKUN et MUKERJI [229]. Le montage se réalise sur coupes fixées et aluminisées.

— Démélanisation. Le prélèvement est traité avec 10 % d'eau oxygénée pendant 8 heures suivant la technique de PEARSE (1961).

— Procédés de coloration. Les coupes démélanisées et non démélanisées sont colorées par l'hématoxyline-éosine de Harris pour mettre en évidence le noyau et le cytoplasme des cellules. La coloration de Masson-Fontana (PEARSE) [78] est utilisée pour visualiser les granules de mélanine des cellules démélanisées.

b) *Travaux de LEVI* [133].

Des fragments de muqueuse gingivale de l'Homme ont

été prélevés sur des individus des deux sexes et d'âges divers. Ces fragments ont été traités par les méthodes d'imprégnation argentique (Cajal-de-Castro, Fontana) et aurique (Gairn), par la Dopa-réaction, par la réaction de Schmorl et par la coloration à l'Azan-Mallory.

2° *Résultats. Morphologie des mélanocytes gingivaux humains* (d'après Lévi) [133].

a) *Mélanocytes.*

D'après leur localisation on peut reconnaître dans la couche basale de l'épithélium de la muqueuse gingivale deux ordres de mélanocytes : les uns sont dans l'alignement des cellules basales entre lesquelles ils sont interposés ; ce sont les mélanocytes basaux ; les autres, situés à la base des cellules épithéliales mêmes, sont appelés mélanocytes jonctionnaux.

Les mélanocytes basaux sont pour la plupart fuselés et unis par des prolongements cytoplasmiques courts et minces. Les grains de mélanine sont rassemblés à un pôle cellulaire et alignés, déterminant ainsi des figures en forme de bâtonnets. Ils occupent l'émergence des prolongements dendritiques.

Les mélanocytes de la couche de la jonction dermo-épithéliale présentent un degré élevé de polymorphisme. Ils sont mono, bi, tri ou tétrapolaires :

- mélanocytes à 1 dendrite : 25 %
- mélanocytes à 2 dendrites : 30 %
- mélanocytes à 3 dendrites : 35 %
- mélanocytes à 4 dendrites : 15 %

Les prolongements cytoplasmiques sont diversement orientés, tant vers la membrane propre de la muqueuse que dans la couche jonctionale. Certains dendrites montent vers les couches spinocellulaires et granuleuses.

Les mélanocytes de la couche spinocellulaire sont en général bipolaires :

- mélanocytes à 1 dendrite : 26 %
- mélanocytes à 2 dendrites : 60 %
- mélanocytes à 3 ou 4 dendrites : 14 %.

Les mélanocytes qui sont à la limite de la couche basale et de la couche spinocellulaire ne présentent pas de caractères différents par rapport aux mélanocytes de la couche jonctionale. Mais en s'approchant de la couche granuleuse,

ils présentent des prolongements cytoplasmatiques plus courts et élargis. Ils sont faiblement pourvus de mélanine.

b) *Cellules de Langerhans.*

La méthode aurique proposée par GAIRN permet de mettre en évidence, dans les couches spinocellulaire et granuleuse de l'épithélium gingival, les cellules de Langerhans.

Les cellules claires de Masson ont été identifiées par la coloration à l'Azan-Mallory et la Dopa-réaction suivie de coloration nucléaire au Carmin aluné.

Dans les couches suprabasales de l'épithélium ginvival, les cellules claires ont un aspect lamellaire, fuselé ou rectangulaire. Il y aurait un mince liseré autour du noyau présent dans certaines de ces cellules. Dans ce liseré sont immergés de rares grains faiblement dopa-positifs.

3° *Morphologie des mélanocytes cutanés de Cobaye* (d'après SHUKLA) [227].

a) *Observations.*

Les coupes sont examinées sous le microscope à champ brillant. On remarque que le degré de réponse au traitement DOPA par les cellules dendritiques varie avec le nombre de dendrites.

Il est :

- ◆ fortement positif (+) pour les cellules ayant 8-7-6-5 dendrites totalement noires (groupe A) ;
- ◆ faiblement positif (±) pour les cellules à 6 et 5 dendrites où seulement la périphérie du corps cellulaire et les dendrites sont noircis (groupe B) ;
- ◆ Négatif (—) lorsque la surface totale des cellules à 5-4-3-2 dendrites n'est pas réagissante au traitement de la DOPA (groupe C) ;

et c'est ainsi que l'on classe les cellules dendritiques :

Groupe A

type 1 - cellule DOPA (+) à 8 dendrites
type 2 - cellule DOPA (+) à 7 dendrites
type 3 - cellule DOPA (+) à 6 dendrites
type 4 - cellule DOPA (+) à 5 dendrites

Groupe B

type O I - cellule DOPA (+) à 6 dendrites
type O II - cellule DOPA (+) à 5 dendrites

Groupe C

type I - cellule DOPA (—) à 5 dendrites
type II - cellule DOPA (—) à 4 dendrites
type III - cellule DOPA (—) à 3 dendrites
type IV - cellule DOPA (—) à 2 dendrites

Les cellules des types 1-2-3-4 (groupe A) fortement positives à la dopa-réaction sont des mélanocytes synthétisant de la mélanine.

Les cellules du groupe C (types I-II-III-IV) sont dopa-négatives, ce sont des cellules de Langerhans ne synthétisant pas de la mélanine.

Enfin celles des types O I et O II du Groupe B, ayant respectivement 6 et 5 dendrites donnant une réaction faiblement positive sont présumées être les cellules intermédiaires de Billingham et Medawar.

Les dix types de cellules dendritiques précédemment cités ont été marquées, mesurées, examinées pour déterminer les caractères généraux de chaque type de cellules.

Les mesures et les caractères de coloration de ces cellules sont présentés dans les tableaux I et II (d'après SHUKLA) [227].

Ces tableaux tout en présentant les caractères cytologiques des dix types de cellules, fournissent une base pour la définition du mélanocyte et de la cellule de Langerhans.

Ces observations ont permis de définir avec plus de précision la morphologie des 3 types de cellules.

b) *Morphologie du mélanocyte de cobaye* (SHUKLA, KARKUN et MUKERJI, cités par Shukla) [227].

Cette cellule localisée à la jonction dermoépidermique, a une structure dopa-positive. Elle a un corps cellulaire en forme de soucoupe à 5 à 8 dendrites corpulents, ramifiés dichotomiquement, terminés en bulbe et bourrés de mélanine. Cette cellule colorée après démélanisation, montre un seul et gros noyau basophile en forme d'œuf et avec deux échancrures, ainsi qu'un cytoplasme clairsemé neutrophile, bourré abondamment de granules de mélanine.

Les dendrites sont soit horizontaux, soit verticaux par rapport au corps cellulaire du mélanocyte. Les dendrites horizontaux, ramifiés forment un réseau dans l'espace dermoépidermique, et les dendrites verticaux après être passés au travers de l'espace intercellulaire des cellules en colonnes, se

Groupe de cellule dendritique	A (Mélanocyte)				B (Cell. intermédiaire de Billingham & Medawar)		C (Cell. de Langerhans)			
Type de cell. dendritique	1	2	3	4	O_I	O_{II}	I	II	III	IV
Nombre de dendrites	8	7	6	5	6	5	5	4	3	2
Réponse à la Dopa	+	+	+	+	$\frac{+}{-}$	$\frac{+}{-}$	-	-	-	-
Caractères de la cellule										
- Forme	py	py	py	pe	he	pe	pe	re	tr	fu
- Longueur totale	65	65	60	55	50	50	46	42	39	35
- " du corps	15	15	12	10	10	10	9	8	7	7
- Largeur	10	10	10	10	10	10	9	8	6	5
Caractères des dendrites										
- Largeur à la racine	3	3	2	2	2	2	1 à 2	1 à 2	1 à 2	1 à 2
- " au sommet	3	3	3	3	2	2	émoussé	fine	fine	fine
- Mode de ramification	di	di	di	di	di ou non	di ou non	ramification au sommet	pas	pas	pas
Caractères du noyau										
- Forme	ébréché œuf	ébréché œuf	ébréché œuf	ébréché œuf	ébréché/œuf irrégulièrement	ovale	pe	re	tr	fu
- Taille (longueur x largeur)	12x6	12 x6	11 x 5	11 x 5	10 x 5	10 x 5	10 x 5	10 x 5	9 x 5	9 x 4

Légende : py = pe - he - re - tr - fu et di indiquent respectivement polygonal - pentagonal - hexagonal - rectangulaire - triangulaire - fusiforme et dichotomique.

terminent au pôle inférieur des cellules basales en forme de couvercle.

Les deux types de dendrites avant de se terminer se resserrent en une sorte de goulot plus délicat.

La longueur totale du mélanocyte varie proportionnellement au nombre de dendrites (de 55 à 65 µ). Les mélanocytes ayant 8-7-6 et 5 dendrites sont désignés comme étant des types 1-2-3 et 4 respectivement.

c) *Morphologie de la cellule de Langerhans.*

Cette cellule a été définie par SHUKLA comme apigmentogène, dopa-négative, à structure dendritique et se trouvant généralement dans la région supra-basale de la peau. Les cellules sont caractérisées par 2 à 5 dendrites non ramifiés (sauf parfois à la pointe) grêles et se terminant en pointe. Elles ont un corps plat avec un seul noyau intensément basophile et rétréci, de la même forme que la cellule. Elles ont un cytoplasme peu abondant, acidophile et sans mélanine.

Ces cellules au contraire des mélanocytes ne communiquent avec aucune autre cellule. Les dendrites ne possèdent pas de « constriction » avec leur terminaison comme cela est trouvé sur les mélanocytes.

La longueur totale de la cellule varie proportionnellement avec le nombre de dendrites (de 35 à 46 µ).

Les cellules de Langerhans ayant 5-4-3 et respectivement 2 dendrites sont classées par SHUKLA en type I-II-III et respectivement IV.

d) *Morphologie des cellules intermédiaires.*

Dans le tableau III, il est fait l'inventaire des caractères prévus de la cellule intermédiaire et se situant à mi-chemin des caractères d'identification de la cellule de Langerhans et du mélanocyte. Cet inventaire est comparé aux caractères de la cellule intermédiaire de Billingham et Madawar.

On peut voir à partir du tableau III que parmi les 11 caractères intermédiaires prévisibles, la cellule à 5 dendrites du type O II en montre 7, alors que la cellule de type O I à 6 dendrites en montre 7. C'est pourquoi ces deux cellules particulièrement la première, pourraient être désignées comme étant les cellules intermédiaires de Billingham et Medawar. Cette étude permet donc de définir la cellule intermédiaire de Billingahm et Medawar.

TABLEAU II

Résumé des propriétés de coloration des dix types de cellules dendritiques épidermiques de la peau noire de cobaye.

Groupe de Cellule	A (Mélanocyte)				B (Cellule intermédiaire)		C (Cellule de Langerhans			
Type de Cellule	I	2	3	4	O_I	O_{II}	I	II	III	IV
Noyau (haematoxyline)	+	+	+	+	+	+	++	++	++	++
Cytoplasme (éosine)	±	±	±	±	±	±	+	+	+	+
Mélanine (contenue dans la cellule)	++	++	++	++	+	+	±	-	-	-

La cellule intermédiaire de Billingham et Medawar est une cellule faiblement dopa-positive que l'on rencontre dans la couche épidermique intra-basale. Elle a un corp pentagonal à 5 et 6 dendrites ramifiés ou non, à terminaisons émoussées et plein de mélanine. Le corps contient comparativement moins de mélanine que les dendrites. Le noyau (coloré par l'hémalun de Mayer) est une structure basophile ovale ou ovoïde au centre de la cellule non démélanisée.

Le noyau n'adopte pas la forme pentagonale ou hexagonale du corps de la cellule comme cela s'est rencontré pour la cellule de Langerhans.

Il est à noter l'identité de la cellule intermédiaire de Billingham et Medawar avec la cellule claire de Mason.

Remarquons enfin l'évolution morphologique du nombre des dendrites du groupe A au B puis au C. Ainsi d'un point de vue morphologique, biométrique, enzymatique (réaction à la dopa), il y a une très nette évolution du mélanocyte à la cellule de Langerhans. Ceci semble confirmé par l'étude du processus de migration intra-épidermique du mélanocyte telle que l'a représenté SHUKLA.

II. — *STRUCTURE DU MELANOCYTE*

Nous étudierons séparément la structure du mélanocyte et celle du mélanosome.

A. — *LE MELANOCYTE.*

Avec THINEY et NOARS [246] nous considèrerons :

1° *Le hyaloplasme.*

Dans le hyaloplasme d'une cellule type existent de fines structures filamentaires, tubulaires ou granulaires (KOMNICK et WOHL FARTH-BOTTERMANN (1904) cités par THINEY).

Cette constatation résulte de nombreuses observations :

• BALLOWITZ [272] avait décrit des tubes intracellulaires et considérait que les mouvements des grains de mélanine étaient causés par des contractions et décontractions péristaltiques des tubes.

• BEHRE [19] étudiant du matériel vivant confirme ces observations.

• SHANES et NIGRELLI [224] utilisant la lumière polarisée décrivent du matériel biréfringent intimement associé aux mélanophores de Fundulus. Ils décrivent des liens de ce

TABLEAU III

Résumé des traits caractéristiques des cellules intermédiaires de Billingham et Medawar (O_I et O_{II}) comparés aux caractères intermédiaires des cellules de Langerhans et du mélanocyte (d'après SHUKLA

	Caractères supposés de la cellule intermédiaire	O_I	O_{II}
1 - Forme de la cellule	pentagonale	hexagonale	pentagonale
2 - Nombre de dendrites	5	6	5
3 - Réponse à la Dopa	$\frac{+}{-}$	$\frac{+}{-}$	$\frac{+}{-}$
4 - Distribution de la mélanine	périphérique et dendritique	dendritique et périphérique	dendritique et périphérique
5 - Forme du noyau	ovale	œuf	ovale
6 - Echancrures dans le noyau	sans échancrures	échancrure visible occasionnellement	sans échancrures
7 - Coloration du noyau à l'hématoxyline	basophile	basophile	basophile
8 - Coloration du cytoplasme à l'éosine	neutrophile	neutrophile	neutrophile
9 - Largeur des dendrites à leur racine (en)	2	2	2
10 - Largeur des dendrites à leur sommet (en)	fine	2	fine
11 - Mode de ramification des dendrites	non ramifié	légèrement dichotomisé	rarement ramifiés(à leur terminaison)

matériel interconnectant les mélanophores. Ce matériel montrait des mouvements Browniens et changeait de biréfringence. Il semble en corrélation avec le degré de dispersion et d'agrégation de la mélanine.

• Sohan Singh Jande [236] montre qu'au cœur de chaque dendrite passe un faisceau de fins filaments s'étendant jusqu'à la terminaison du dendrite. Chaque filament a environ 60 Å de diamètre et est semblable à des filaments de kératine presents dans les cellules épidermiques. En compagnie de tels filaments, il constate la présence d'une structure en « double mur ». Celle-ci a un diamètre extérieur de 250 Å. Elle a 50 Å d'épaisseur et n'est pas aussi dense qu'une membrane cellulaire. Morphologiquement cette structure tubulaire ressemble aux microtubules décrits par Ledbetter et Porter [129, 130].

• Porter [190] effectue des recherches fonctionnelles sur les tubules des mélanophores d'Actino sphaerium.

• Bikle, Tilney et Porter [26] étudient les microtubules et la migration du pigment dans les mélanophores de Fundulus hétéroclitrès.

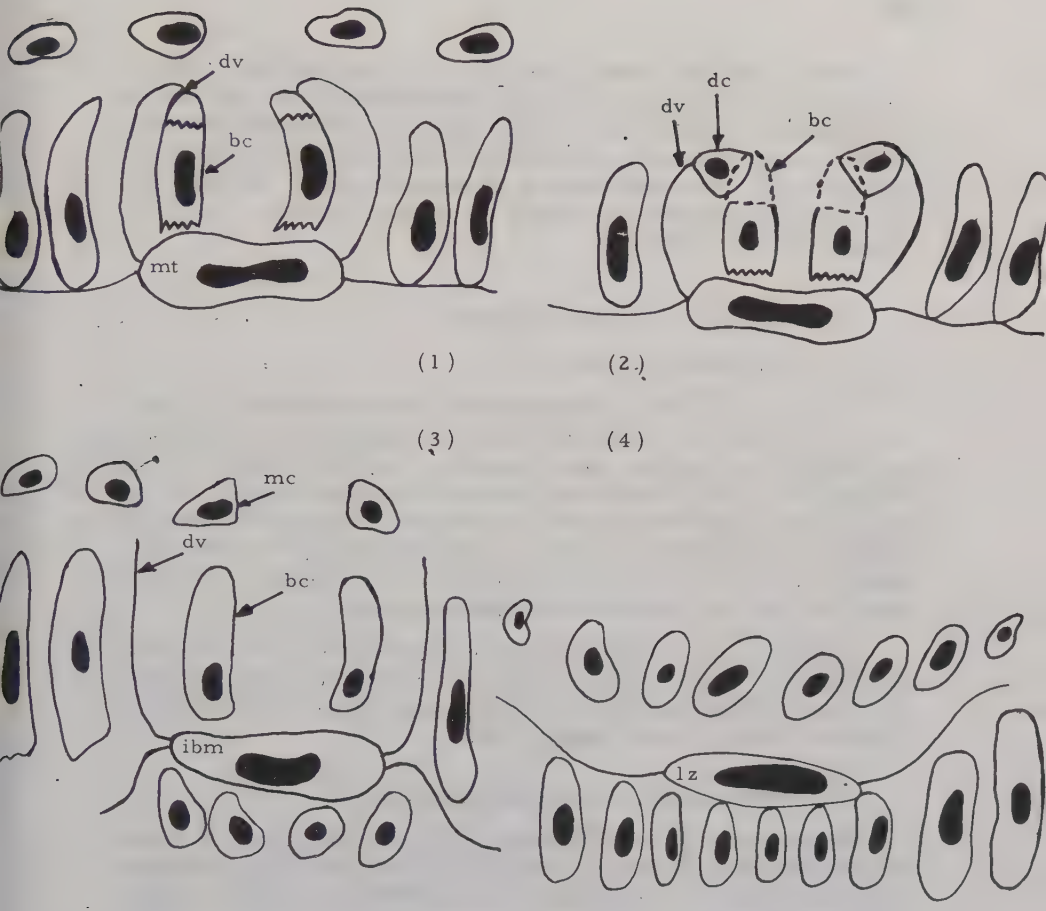
Enfin Fujii [89] en étudiant l'interprétation fonctionnelle de l'ultrastructure du mélanophore du poisson Lebistes reticulatus, montre que les grains de mélanine migreraient électrophorétiquement à l'intérieur des dendrites.

D'autres études ont montré qu'il semblerait exister une division du hyaloplasme. En effet Falk et Rhodin [77] étudiant la structure fine des mélanophores dermiques décrivent une membrane de 80 Å d'épaisseur divisant le cytoplasme en deux régions :

— la région interne qui contient en plus du noyau et des organelles cellulaires les grains de mélanine ;

— la région externe qui est délimitée par une membrane de 1 200 Å d'épaisseur et exclusivement occupée par des filaments. La membrane délimitant la région externe a sur sa surface externe une couche de matériel dense, semblable à celui des autres cellules incluses dans le tissu conjonctif sous-cutané.

Ces auteurs croient que sous l'influence des filaments présents dans la région externe, qu'ils considèrent comme contractile, la région interne se trouve élargie. Cela correspond à l'état de dispersion des grains de mélanine. Au contraire avec le relâchement des filaments, la région interne voit sa surface diminuée et les mélanophores apparaissent contractés.



Représentation schématique d'après SHUKLA du processus de migration du mélanocyte à partir de la région supra-basale et sub-basale.

(1) Le corps concave du mélanocyte (mt) logeant deux cellules basales. Le dendrite vertical du mélanocyte (dv) est venu se joindre aux pôles supérieurs des cellules basales (bc).

(2) Division de la cellule basale. Les cellules filles supérieures (dc) attachées par les dendrites des mélanocytes du dessous formeront les cellules Malpighiennes (mc).

(3) Le mélanocyte a atteint la région intrabasale et rompu ses connections avec la cellule basale fille au niveau de la région dendritique déjà en forme de cône. Le mélanocyte intra-basal (ibm) forme maintenant la cellule fille de Billingham et Medawar.

(4) La cellule intermédiaire est transformée en cellules de Langherans (lz) dans les couches granulaires de l'épiderme, avec tous ses dendrites perdus (sauf 2) dans le processus de migration de la région sub-basale à la supra-basale.

Sohan Singh Jande [236] lui n'a pas découvert cette division du cytoplasme sur les mélanophores du derme et de l'épiderme de tétards. Il pense que, les mélanophores dermiques étant entourés de tissu conjonctif dermique riche en filaments, une confusion a pu intervenir en considérant la partie environnante comme la région externe du cytoplasme du mélanophore.

2° *Les systèmes membranaires.*

a) *Membrane plasmatique.*

Dans le cas des mélanophores épidermiques la membrane plasmatique apparaît souvent discontinue peut-être en raison de l'action des fixateurs d'après Sohan Singh Jande [236]. Elle ne montre pas de structure d'union avec les cellules épidermiques environnantes (du type des desmosomes ou d'hémidesmosomes). Par contre l'extrêmité des dendrites des mélanocytes (Shukla) [227] se termine en chapeau sur des cellules épidermiques voisines.

Dans le cas du mélanophore dermique, la membrane plasmatique est totalement lisse et n'est pas incluse dans une quelconque structure d'union avec des cellules voisines (d'après Sohan Singh Jande) [236].

b) *La membrane intra-hyaloplasmique.*

Décrite par Falk et Rhodin [77] elle diviserait le cytoplasme en deux régions. Il semble qu'il s'agisse d'un artéfact ou d'une erreur d'interprétation (d'après Sohan Singh Jande) [236].

c) *Les mouvements membranaires d'endocytose.*

Mishina [162] a montré l'inclusion de mélanine par les lysosomes.

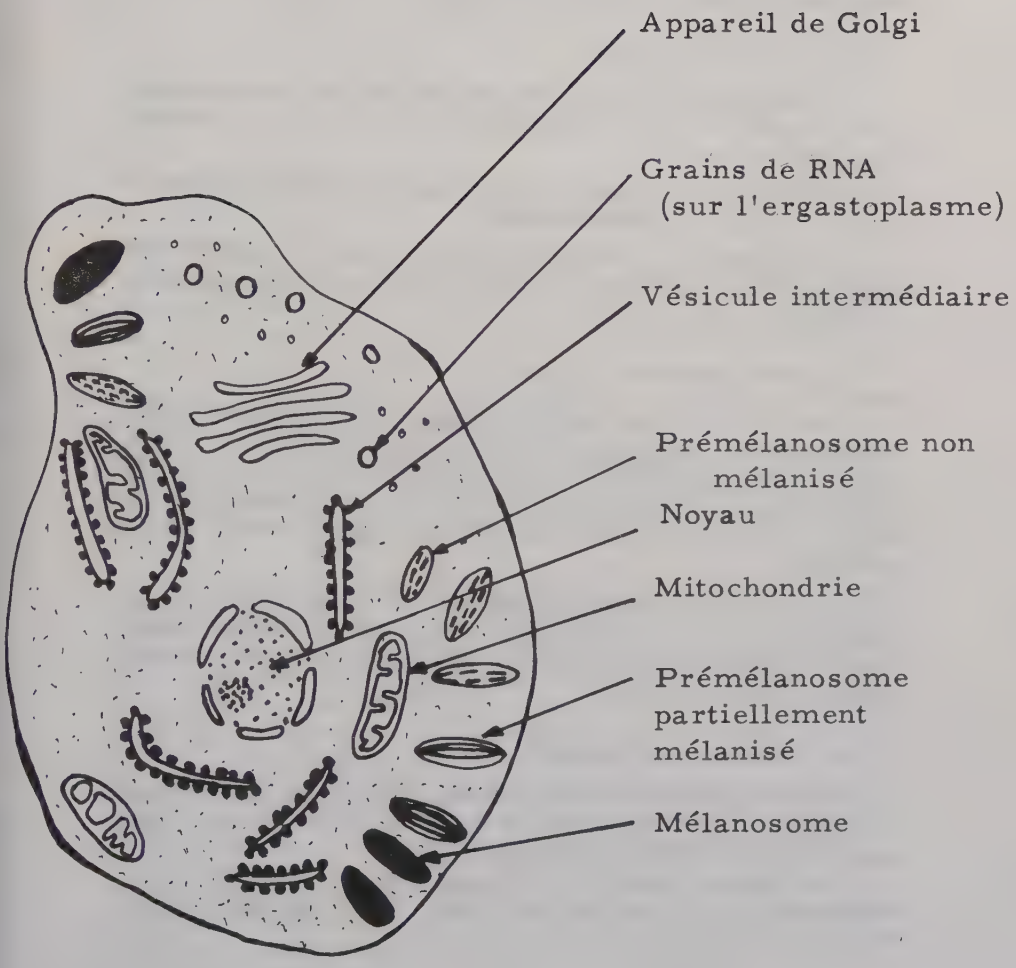
3° *Les systèmes d'information et d'élaboration.*

a) *Le noyau.*

Poirer et Nunez-Dispot [188] décrivent un noyau arrondi contenant un nucléole et limité par une double membrane habituelle.

b) *Les ribosomes.*

D'après Fujii [88] des ribosomes sont présents dans le cytoplasme des mélanophores des poissons.



Ultrastructure du mélanocyte
Schéma d'après POIRIER et NUNEZ-DISPOT

c) *Ergastoplasme et réticulum endoplasmique.*

Pour POIRIER [188] il est bien développé et évoque l'existence d'une sécrétion protéique. Pour FUJII [88] le réticulum endoplasmique est vésiculaire.

d) *Appareil de Golgi.*

— *Mélanophores épidermiques* du tétard d'après SOHAN SINGH JANDE. Il y a un complexe de Golgi visible dans la région nucléaire.

— *Mélanophores dermiques.* Toujours d'après JANDE le corps de Golgi n'est pas évident.

— *Mélanocytes.* D'après POIRIER [188] l'appareil de Golgi lui aussi développé évoque l'existence de la synthèse protéique.

e) *Cycle sécrétoire.*

Il semble évident d'après les images au microscope électronique qu'un cycle sécrétoire existe dans les mélanocytes, comme dans tout autre cellule (d'après BIRBECK) [29]. Cycle intéressant les ribosomes, le réticulum endoplasmique, le golgi et aboutissant à la formation du mélanosome et de la mélanine.

Par la suite, les mélanosomes sont distribués aux cellules voisines par les dendrites et absorbés par les cellules réceptrices vraisemblablement par un phénomène de phagocytose (d'après MISHIMA) [162].

4° *Systèmes énergétiques.*

Les mitochondries sont (POIRIER) [188] plus abondantes que dans les kératinocytes, ce qui tend à confirmer l'existence d'une synthèse protéique intense.

Par contre, pour SOHAN SINGH JANDE [236], les mitochondries ne sont pas évidentes dans les mélanophores dermiques.

B. — *LE MELANOSOME*

1° *Définition et nomenclature de Sofia* 65.

Le terme « mélanosome » a été introduit par SEIJI et coll. pour décrire un organelle spécialisé qui se développe à l'intérieur du mélanocyte. Ce terme a été proposé car sous le nom de « granule de mélanine » on décrivait des particules pigmentées de taille et de structure très sensiblement dif-

férentes, rencontrées dans les mélanocytes, macrophages et les kératinocytes.

En 1963, Seiji et coll. proposaient que 3 termes soient utilisés : prémélanosomes, mélanosomes ou grains de mélanine pour désigner ces organelles spécialisés d'après leurs différents stades de développement, leur mélanisation et leur densité électronique. C'est ainsi qu'au cours de la VI[e] conférence sur la structure et le contrôle du mélanocyte à Sofia 25 à 29 mai 1965, ces termes furent définis comme suit.

— *Prémélanosome :* matrice protéinique particulière sur laquelle la mélanine sera disposée pour former le mélanosome.

— *Mélanosome :* prémélanosome après le début mais avant l'achèvement de la synthèse mélanique. Les mélanosomes se caractérisent par leur activité tyrosinasique.

— *Grain de mélanine :* organelle contenant de la mélanine et dans lequel la mélanisation est complète. L'activité tyrosinasique n'est pas décelable.

— *Mélanosomes complexes :* mélanosomes multiples retenus dans une matrice de soutien et que l'on rencontre dans les macrophages et les cellules malpighiennes des Mammifères.

Bien que cette nomenclature ait été largement utilisée, certaines difficultés n'en existent pas moins. Il n'a pas été démontré par exemple que le degré de mélanisation soit le seul facteur qui détermine la densité aux électrons de l'organelle contenant de la mélanine. En outre, il est très difficile de déterminer précisément le début de la synthèse de mélanine et ainsi de distinguer clairement les prémélanosomes des mélanosomes. C'est pourquoi, il est maintenant proposé d'utiliser le terme *mélanosome* pour distinguer les organelles pigmentés contenant de la mélanine seulement.

Cette suggestion de réserver le terme de mélanosome à la production terminale de la synthèse de mélanine est compatible avec la nomenclature appliquée aux autres organelles cellulaires, ribosomes et lysosomes par exemple.

Ainsi, le terme prémélanosome ne serait appliqué qu'aux autres stades de la génèse des mélanosomes précédant le stade de total développement.

On peut donc subdiviser le stade prémélanosome en :

Précoce	phase précoce
Intermédiaire	phase intermédiaire
Terminal	phase terminale.

Le terme *grain de mélanine* pourrait être retenu pour inclure toutes les particules contenant de la mélanine et qui peut être observé au microscope optique. Les adjectifs ou termes additifs associés à ces noms d'organelles pigmentés souligneraient les précisions ajoutées par les études faites en microscopie électronique et par les biochimistes.

2° *Le mélanosome.*

a) *Structure et ultrastructure.*

Le mélanosome d'après DROCHMANS [70]. Notons aussi que MAUL [154] a étudié le mécanisme de formation des mélanosomes sur des lignées locales de mélanosomes humains et les différentes étapes de la formation.

— *Généralités :* le granule de mélanine appelé mélanosome est la structure cytoplasmique du mélanocyte qui porte le pigment mélanique. Le mélanosome peut être considéré comme une entité biologique du point de vue morphologique et fonctionnel. Il représente la particule unité de mélanine. Il peut varier en forme et taille avec les espèces et peut changer en densité cela dépendant des influences extérieures telles que structuration hormonale et physique. Par agglomération les mélanosomes peuvent aussi constituer des particules plus grandes, que nous appelons « mélanosomes composé », avec DROCHMANS. Ces agrégats de mélanosomes correspondent au plus haut degré d'organisation de pigment mélanique trouvé dans les cellules pigmentaires.

— *Mélanosome :* particule unité de mélanine.

• *Forme :* la forme des mélanosomes cutanés est constante pour une espèce, mais varie d'une espèce à une autre. Dans les tissus humains pigmentés ils apparaissent comme des corps ovoïdes de 0,1 mu de long pour 0,05 mu de large. Dans la peau de chat, les mélanosomes présentent une forme cylindrique avec des terminaisons arrondies ou angulaires. Ces différences de forme ont été étudiées et très soigneusement décrites par LAXER et coll. [126]. Ils examinaient au microscope électronique des préparations assombries de granules isolés. Beaucoup d'autres travaux sur la morphologie des grains de mélanine montrent que leur forme dépend très directement de facteurs génétiques. Cela implique que l'élaboration de ces structures suive un processus bien défini.

• *Le mélanosome fibrillaire primaire :* cette structure peut être considérée comme l'une des formes de développement les plus précoces des grains de mélanine. Les dimension et forme du mélanosome fibrillaire précoce sont proches des formes matures et denses.

Les fibres orientées suivant le grand axe du granule sont en faisceau entre ses deux extrémités et montrent une structure enroulée de deux ordres : le premier enroulement le long du fibrille ressemble à un filament hélicoïdal de protéines et le second avec un enroulement plus grand donne à la fibrille une configuration spirale qui extérieurement ceint le mélanosome.

Les premiers enroulements courts, le long des fibrilles de 50 Å de diamètre donnent une structure de type hélicoïdal caractérisée par un diamètre extérieur de l'hélice de l'ordre de 130 à 150 Å et un pas de 110 Å.

De semblables structures ont été rencontrées par Staübli et Loustalot [238] dans les mélanosomes mélanotiques de hamster et peuvent être remarquées dans les photos au microscope électronique de mélanosomes de peau normale publiées par Birbeck [29].

Des structures filamenteuses qui forment des hélices aux dimensions comparables à celles trouvées le long des fibrilles mélanosomiques ont été récemment décrites par Magnaini [143] dans les espaces intracristellaires des mitochondrie. Chaque filament a une épaisseur de 30 Å environ, le diamètre externe de l'hélice est de 140 Å et le pas de 120. L'auteur considère que ces filaments hélicoïdaux sont des macromolécules de nature protéique. La comparaison est intéressante à prendre en considération d'après Drochmans qui pense que cette configuration en spirale détermine la forme externe du mélanosome.

• *Le mélanosome strié : une forme intermédiaire.* Le mélanosome strié diffère de la forme précédente par une condensation de sa structure fibrillaire. Au centre du granule des arcs de lignes courtes et parallèles semblent disposés transversalement dans le mélanosome oblong. Ce corps strié axialement a une largeur qui varie d'un granule de pigment à un autre et dépendant surtout du plan de section ainsi que du degré de maturation. La périodicité de la striation dans la partie compacte et dense du mélanosome est d'environ 75 Å. Ceci est moins important que la valeur du pas des fibrilles enroulées du mélanosome fibrillaire primaire.

• *Le mélanosome dense : la forme mature.* La plupart des granules unités trouvés dans des mélanocytes sont des mélanosomes denses. Dans des tissus fixés au tétroxyde d'osmium, ils sont caractérisés par un noyau central à densité électronique basse et par une couche corticale osmiophile très dense.

Noyau central : dans les préparations non colorées le noyau central semble être plus ou moins amorphe et sa densité dépend de l'épaisseur de la coupe. Mais après coloration électronique une ultrastructure interne peut être décelée. La coloration à l'acide phosphotungstique ajoutée à l'alcool absolu de déshydratation avant l'inclusion au méthacrylate révèle dans les granules de mélanine denses un dessin interne. Il consiste en lignes claires disposées longitudinalement dans une matrice amorphe. L'exposition de coupes fines à une solution de permanganate de potassium a un effet de différenciation sur la structure des mélanosomes denses, tel que des structures internes obscurcies deviennent apparentes.

Après quarante minutes d'exposition à la solution oxydante le noyau central montre une structure régulière comme du cristal.

Dans des granules sectionnés longitudinalement, des lignes denses longitudinales et transversales sont séparées les unes des autres par des espaces clairs. Il semble qu'une substance a été extraite du noyau central et que cela a rendu apparent la structure sous-jacente.

Région corticale : La région corticale dense des mélanosomes « matures » consiste en une substance osmiophile granulaire. La coque est irrégulière en épaisseur et, à un fort grossissement, on note la présence d'une fine texture granulaire. Le dessin de ces petits granules corticaux semble (être enregistré) avec celui de la texture fibrillaire révélée dans le noyau central.

La coquille osmiophile disparaît après le traitement des coupes au permanganate en même temps que le ciment de la région centrale est extrait.

— *Mélanosome composé.*

• *Définition :* Des observations de MISHIMA [161] ont suggéré que des mélanosomes ingérés par des macrophages s'agrégeaient dans des organelles délimités par des membranes et contenant une phosphatase acide. On croyait ainsi que cette agrégation relevait d'un mécanisme lysosomique, jusqu'à ce que DROCHMANS [70] décrive le mélanosome composé comme une forme de l'évolution de la formation du granule de mélanine.

Depuis on a assisté à l'apparition de dénominations diverses :

— FITZPATRICK et coll. [84] le désignent par « mélanosome complexe ».

— Drochmans [69] le désigne par « granule de mélanine composé ».

— Le même Drochmans [70] utilise le terme de « mélanosome composé ».

— Prasad [192] enfin le dénomme « polymélanosome ».

Enfin à Sofia (1965) on s'est accordé pour désigner sous le terme de complexes de mélanosomes, les mélanosomes multiples contenus dans une matrice de soutien (se voient dans les macrophages et dans les cellules malpighiennes des Mammifères).

• *Morphologie* (d'après Drochmans) [70]. Les mélanosomes élémentaires trouvés dans les mélanocytes sont transférés comme granules individuels à d'autres cellules c'est-à-dire aux cellules épidermiques de la couche de Malpighi. Il a été montré que les dendrites des mélanocytes pénètrent dans les cellules épidermiques. Ces dendrites abandonnent les mélanosomes élémentaires dans le cytoplasme de la cellule hôte. Ce transfert des granules est suivi par leur tendance à s'agglomérer en une forme composée. Trois parties principales sont à distinguer : le noyau central, la substance interstitielle, la composante membranaire.

Le noyau central des granules élémentaires est parfois homogène ou parfois construit comme les formes précoces de mélanosomes. Ces noyaux peuvent être sectionnés dans différents plans en raison de leur distribution au hasard à l'intérieur du granule composé.

L'ultrastructure des noyaux centraux est semblable à la texture fibrillaire des mélanosomes au cours de leur stade précoce de développement dans les mélanocytes.

La substance interstitielle est nettement osmiophile. Elle entoure les noyaux et remplit les espaces laissés entre eux.

La composante membranaire est visible dans la plupart des mélanosomes composés, elle enrobe l'agglomérat tout entier, mais n'est pas apparente autour de chaque granule individuel élémentaire.

L'agglomération des mélanosomes en unités composées semble être un processus soudain et rapide qui survient lorsque les mélanosomes viennent au contact du cytoplasme de la cellule hôte. Deux types de granules composés existent, des granules denses et osmiophiles et des granules clairs dans lesquels l'ultrastructure est visible. Les deux types montrent une grande régularité de forme et de taille.

• *Des variations de morphologie peuvent s'observer.* On leur reconnaît comme cause :

• *L'irradiation solaire.* Hori et coll. [116] signalent que les spécimens des biopsies de peau de deux sujets caucasiens prélevés 4 heures après 60 minutes d'irradiation solaire révélaient des changements remarquables dans les mélanosomes complexes. Au lieu d'un mélanosome complexe formé de 2 ou 3 mélanosomes simples, 5, 10 ou même plus pourraient être inclus à l'intérieur d'une seule membrane.

• *La situation dans la peau* (couche cellulaire). Ces changements dans le mélanosome complexe sont évidents dans la région cellulaire basale (de la peau). Dans les couches plus superficielles de l'épiderme de peau normale ou irradiée, les mélanosomes ne sont pas nombreux ou peuvent même être absents. En fait on peut dire que les mélanosomes complexes sont progressivement plus petits ou absents et moins remarquables au fur et à mesure que l'on s'approche de la Stratum corneum.

• *La localisation régionale.* D'après Drochmans [70] le mélanosome complexe est plus grand dans les kératinocytes de la peau de la vulve des femmes gestantes.

• *La race.* Cela est évident non seulement chez les caucasiens, mais également dans la peau de Noir et d'Oriental.

• *L'état pathologique.* Clark [53] observe des mélanosomes complexes de 10 à 50 mélanosomes dans les kératinocytes de mélanome lentigomalius.

• Enfin, signalons que ces organelles varient considérablement d'une cellule à une autre et même à l'intérieur d'une cellule et montrent un profond polymorphisme lors des traitements variés (De Duve et Novikoff) [65, 170].

• *Physiologie.* Prasad et Jamuar [192] ont démontré que les polymélanosomes possèdent trois enzymes mitochondriaux, la monoaminooxydase (M.A.O.), la cytochromeoxydase et enfin la muccinooxydase. D'autre part, Hori et coll. [116] ont étudié l'activité phosphatase acide des mélanosomes complexes.

Les grains de mélanine.

— *Nomenclature et définition.* D'après la nomenclature de Sofia 65 ( ) le grain de mélanine est un organelle contenant de la mélanine et dans lequel la mélanisation est complète. L'activité tyrosinasique n'est pas décelable. Il y a un ou plusieurs mélanosomes dans une matrice homogène.

— *Production in vitro.* Plummer et Kopac [187] ont étudié la production *in vitro* de granules de pigments (mélanines). Ils en ont décrit plusieurs conséquences intéres-

santes : le rôle de la tyrosinase, l'existence d'une consommation d'oxygène et le fait que la transformation de particules pigmentaires en granules requiert en plus d'un substrat physique sur lequel la polymérisation et le dépôt des substances phénoliques oxydées se réalisent.

— *Ultrastructure.* Squier et Water House [237] ont étudié l'ultrastructure des mélanocytes de l'épithélium gingival de l'Homme. Hors le fait que les mélanocytes sont analogues à ceux décrits dans l'épiderme de la peau humaine, il signale que les sujets blancs et noirs ne présentent de différences qu'en ce qui concerne les grains de mélanine.

Rittenhouse [209] a réalisé quant à lui l'étude de l'ultrastructure des grains de mélanine dans les mélanocytes du bulbe de la souris domestique.

b) *Transfert des prémélanosomes.*

Notion de transfert.

Parakkal [177] a bien situé le problème en travaillant sur des souris albinos de 40 jours. Les mélanocytes dans le follicule pileux albino occupent la partie supérieure de la papille dermique. Des prémélanosomes sont distribués au hasard à travers leur cytoplasme. Ces granules ovoïdes reliés, emballés par des membranes, ont une taille de 0,2 à 0,5 mu, ils consistent en éléments fibreux et sont soit rangés régulièrement, soit en lignes parallèles.

Des prémélanosomes identiques à ceux vus dans les mélanocytes apparaissent dans les cellules en différenciation du follicule pileux. Les cellules de la médullaire et de la corticale en différenciation, peuvent être reconnues par la présence de granules denses et sphériques dans la première et de filaments en bottes dans la seconde.

Puisque les prémélanosomes sont identiques dans les mélanocytes et les cellules en différenciation du cheveu et puisque des prémélanosomes sont synthétisés seulement dans les mélanocytes, on en déduit qu'il y a eu transfert.

Ce transfert est également déduit des observations de cellules kératinisantes du cheveu et de l'épiderme des animaux avec des marqueurs colorants en microscopie optique et électronique.

Différents types de transfert.

Szabo et Cohen [242] en ont réalisé l'étude en culture de tissus.

Parakkal [177] présente les théories avancées pour

expliquer le mécanisme de transfert de grains de mélanine dans les cellules épidermiques. Les grains de mélanine pourraient être activement inoculés dans les cellules récipiendaires par les dendrites des mélanocytes.

Mais, le transfert pourrait également résulter de la phagocytose des granules de mélanine par les cellules épithéliales. En effet, HORI et coll. [116] ont constaté que les mélanosomes complexes des kératinocytes épidermiques ont plusieurs propriétés attribuées couramment aux lysosomes. C'est pourquoi la distribution et la dégradation des granules de mélanine dans l'épiderme pourraient être effectuées par un mécanisme lysosomique.

DE DUVE [65] classe les lysosomes en quatre variétés :

1) le granule qui emmagasine ou lysosome pur ;
2) la vacuole digestive ;
3) la vacuole autolytique ;
4) le corps résiduel.

Dans chacune de ces formes, l'organelle doit avoir certaines propriétés biochimiques, morphologiques et fonctionnelles pour remplir le critère « lysosome ». Il doit contenir une douzaine d'enzymes hydrolytiques. Il doit être délimité par une membrane, mais il peut varier de forme. Enfin, il doit être capable de digestion auto et hétérolytiques.

NOVIKOFF [170] a montré que les lysosomes sont riches en phosphatases acides, or on sait la présence de ces enzymes hydrolytiques dans les vacuoles phagocytaires des mélanophages dermiques.

MISHIMA [162] a trouvé que l'activité phosphatase acide est concentrée dans les mélanophages et qu'il n'y a que peu ou pas d'activité dans les mélanocytes à la jonction dermo-épidermique. Enfin, il a été observé au microscope électronique en utilisant la réaction de Gomori modifiée, que l'accumulation, opaque aux électrons, de sulfure de plomb résultant d'une activité phosphatase acide se manifeste en premier dans les vacuoles phagocytaires concentrant des mélanosomes des mélanophages.

Cette deuxième hypothèse est-elle la meilleure ? Cela est difficile à avancer, car dans l'étude réalisée par PARAKKAL, des membranes situées autour des prémélanosomes, et qui indiqueraient une arrivée par phagocytose, n'ont pu être observées. Cependant, il n'y a aucun fait convaincant pour l'autre mode de transfert d'après PARAKKAL.

Quant à la théorie de CHARLES et INGRAM (1959) qui sti-

pulait que les grains de mélanine passaient du mélanocyte aux cellules épidermiques par une rupture de la membrane cellulaire, elle n'a jamais été confirmée.

C. — *LA CELLULE DE LANGERHANS*

1° *Définition.*

D'après Sofia 65, la cellule de Langerhans est une cellule distincte de l'épiderme et du derme des Mammifères et qui est présumée appartenir à la série des mélanocytes. Elle est révélée par l'imprégnation à l'or et contient des organelles discoïdes non mélanisés.

2° *Etude de la cellule de Langerhans.*

a) On la rencontre plus ou moins régulièrement dans l'épiderme de Mammifères, dans les couches superficielles. On l'a longtemps appelée cellule dendritique.

b) *Ultrastructure.*

Ultrastructure générale :

Les images au microscope électronique montrent que ce sont des cellules actives et saines d'après Birbeck et Breatnach [32] (cités par Bloom et Fawcett).

- le noyau a un contour particulièrement irrégulier ;
- le cytoplasme est d'une densité relativement faible ;
- il n'y a pas de mélanosome ;
- il n'existe pas de desmosomes (tel est le cas des mélanocytes également) ;
- il n'existe pas de desmosome (tel est le cas des méla-
- l'appareil de Golgi, les mitochondries et le réticulum endoplasmique sont présents, mais sans particularité ;
- le cytoplasme contient aussi centriole et lysosomes.

Le granule des cellules de Langerhans :

Cet organelle est considéré comme une production spécifique des cellules dendritiques épidermiques. Mais récemment des structures identiques ont été observées dans des lésions osseuses et pulmonaires de l'histiocytose.

Présentée par Wolff [265], l'image la plus courante au microscope électronique est celle d'un profil de baguette à bouts arrondis et une membrane limitante d'approximativement 55 à 60 A d'épaisseur. La surface interne de la membrane est recouverte par un étalement unidimensionnel de

petites particules espacées de 50/60 Å et qui constituent une petite formation attachée à l'enveloppe membranaire. Au milieu des membranes limitantes, se trouve une lamelle centrale composée de particules opaques aux électrons et séparées de 50 à 60 Å, alignées en deux groupes formés de lignes parallèles. En raison de l'espacement régulier de ces particules, la structure en baguette acquiert un type définitif de striation en croix.

Ces profils sont très souvent continués par des vésicules rondes et cela ressemble à des raquettes de tennis. Habituellement la vésicule est localisée à une extrémité du granule, mais elle peut aussi être vue dans son centre, avec la structure en languette projetée à partir de sa circonférence.

Les vésicules ont un centre clair et la face interne de leur membrane limitante est recouverte par un matériel granulaire très fin. Des vésicules sans baguette, mais montrant une zone à granulations sont fréquemment vues dans la région du Golgi. Ces structures peuvent représenter des granules en raquette de tennis mais dont la coupe intéresse la portion raquette. Elles apparaissent ainsi dépourvues de structure en baguette.

La zone granulaire de leur membrane limitante permet leur différenciation des vésicules de Golgi à surface lisse.

Si les granules sont sectionnés transversalement, ils apparaissent comme des corps ronds ou ovales contenant un lacis de petites particules bidimensionnelles.

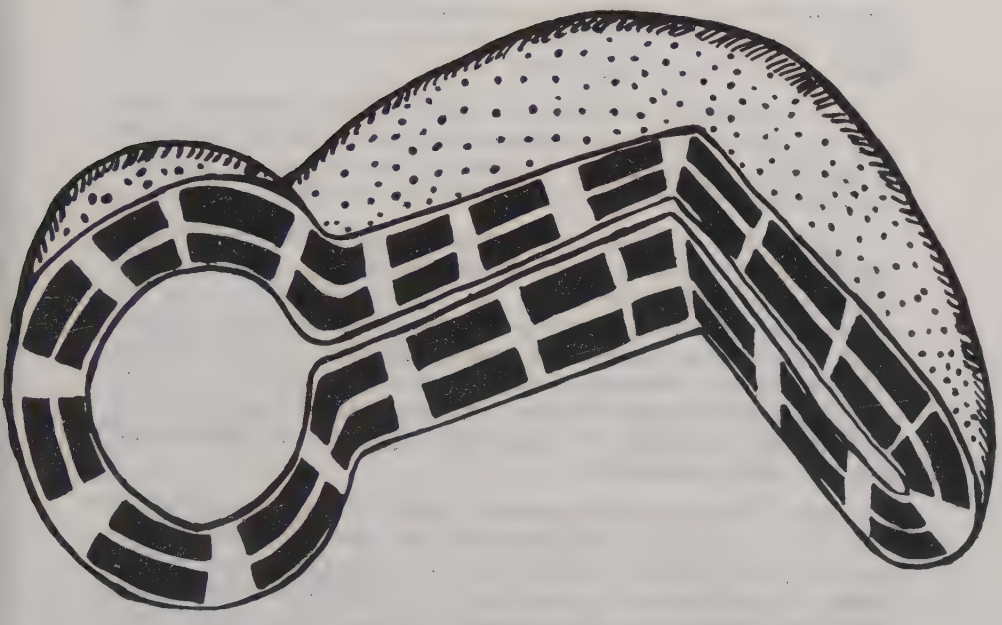
Dans les plans de section légèrement différents, ces particules semblent se ranger en deux bandes linéaires, donnant à l'organelle une apparence de striation en croix.

La portion vésiculaire du granule semble s'attacher à la périphérie de tels profils linéaires, ou est vue dans le centre.

— *Lieu où se trouve le granule dans la cellule.* La grande majorité des granules des cellules de Langerhans se trouve à l'intérieur ou dans le voisinage de la région de l'appareil de Golgi. Mais ils peuvent aussi être vus à d'autres endroits du cytoplasme et dans les dendrites.

Parfois, les granules sont attachés à la membrane plasmatique et leur intérieur est en continuité avec l'espace extracellulaire.

— *Reconstitution de la structure tridimensionnelle du granule.* A partir de ces images dans différents plans de section, les granules des cellules de Langerhans apparaissent



Modèle stéréo du Granule de Langerhans
(d'après K. WOLFF)
[J. Cell. Biol. U.S.A. 1967, 35, 2, 201-212]

comme une structure plate en assiette d'approximativement 50 μ d'épaisseur et de 1/1 de diamètre.

Cependant, le corps en assiette peut être aussi trouvé incurvé ou plié acquérant ainsi une forme semblable à une tasse, comme cela est démontré par le modèle stéréo de WOLFF [265] (voir figure hors texte).

Les particules forment un lacis tridimensionnel composé de quatre surfaces bidimensionnelles séparées. Le bulbe faisant une protubérance à partir de la surface du granule correspond à la portion vésiculaire des coupes.

Le modèle proposé par BIRBECK et coll. [33] montre son intérieur comme une seule lame recouverte de particules régulièrement espacées. Ceci est en contradition avec les observations de WOLFF qui indiquent que cette structure est plus complexe et comprend quatre feuillets (2 formant la lamelle centrale alors que deux autres sont attachés à l'enveloppe membranaire, une de chaque côté). Il est également visible que la portion en raquette du granule ne représente pas une seule membrane.

Ainsi le mélanocyte possède, outre l'ultrastructure générale d'une cellule, des mélanosomes ou des prémélanosomes non ou partiellement mélanisés. C'est ainsi que dans l'albinisme les mélanocytes contenant des prémélanosomes non mélanisés pourraient être appelés albinomélanocytes. D'autres part, par rapport aux autres cellules épidermiques, il ne contient ni desmosomes ou hémidesmosomes ni tonofilaments.

Enfin les cellules de Langerhans contiennent un organelle discoïde particulier non mélanisé.

CHAPITRE TROISIEME

BIOCHIMIE DES MELANOCYTES : LA MELANOGENESE

Si la mélanine a été le révélateur de l'existence du mélanocyte, cela est sans doute dû à sa couleur et à sa facilité de mise en évidence. Si bien que, l'étude du mélanocyte s'est pendant longtemps résumée à l'étude des mélanines. L'avènement du microscope électronique a fait faire un bond aux connaissances structurales et ultrastructurales de la cellule. Par contre, les mélanines du point de vue biochimique restent toujours un domaine aussi complexe, surtout en ce qui concerne la structure.

I. — *LA MELANINE*

1° *Définition.*

Ethymologiquement, mélanos en grec = noir : Néanmoins, au fur et à mesure que les connaissances s'accumulaient sur les mélanines, l'on constatait leur multiplicité numérique. C'est pourquoi selon la mélanine étudiée, selon les conditions d'étude et selon l'optique de l'auteur de multiples définitions ont été proposées.

Ainsi pour :

• Fox [87], la mélanine est un terme générique pour un groupe de substances naturelles très largement distribuées, responsables des nuances de brun, noir, chamois et bleu tyndall fréquemment rencontrées chez des animaux et plantes.

• Verne : la mélanine existe sous forme de grains et ils sont résistants à la plupart des agents chimiques.

• Pryor [193], les mélanines peuvent être polymérisées par couplages répétés d'intermédiaires monomères simples, bio ou poly fonctionnels ou peuvent être de haut poids moléculaire parce que ces intermédiaires se sont couplés avec de grosses molécules (sclérotine par exemple) ou des granules

pigmentés dans des mélanocytes de Mammifères. Greenstein - Turner et Jenrette [97], Barrenshen et Pring [9], Waelsh [255], Piettre [184], Mason, Kabler, Mac-Cardle, Dalton [149].

• Mason [45] enfin a essayé de concilier ces définitions en se basant sur le fait que le pigment mélanique n'est pas une entité chimique définie. Il y a en effet des mélanines dont la composition varie avec la molécule qui lui a donné naissance et le milieu organique qui les a élaborées :

1) *les mélanines de synthèse,* nées *in vitro* d'une substance mère précise et choisie par expérimentateur ;

2) *les mélanines naturelles* dont le chromogène (variable) reste sujet à discussion. Néanmoins, toutes ces mélanines sont de hauts polymères insolubles et dont les molécules élémentaires proviennent de l'oxydation de chromogènes multiples, quoique possédant en commun la fonction phénol.

Remarquons que l'on oppose actuellement la mélanine pigmentée en noir ou en brun à la phéomélanine, pigment jaune de constitution et d'origine nettement différentes au point qu'on pourrait ne pas la considérer comme une mélanine.

Enfin Flesch [85] en isolant des sidérines de sept espèces animales : Homme, chien, lapin, hamster, rat, souris, poulet, étudie le système pigmentaire rouge en relation avec la mélanogénèse noire. L'interconversion entre les voies de biosynthèse (tyrosine et Dopa) aboutit à une hypothèse évolutionniste.

Nous n'étudierons ici que les pigments noirs, c'est-à-dire les mélanines sensu scripto.

2° *Etude des propriétés physiques.*

a) *Couleur.*

Pigments variant du noir au jaune clair en passant par le chamois, le rouge, le bleu, le violet.

b) *Morphologie.*

La mélanine se présente sous forme de grains de diamètre variant de 0,2 à 1,5 μ et de 0,1 à 0,5 de large (d'après Barnicot et Birbeck [8] (cités par Thiers).

c) *Solubilité.*

Le pigment est insoluble dans les solvants habituels

minéraux ou organiques. La sensibilité dans l'alcool et la pyridine (Bloch et Schaaf [36], cités par Thiers) ou l'éthylène diamine Lea [128] n'est le fait que de mélanines altérées.

Elles sont cependant solubles dans les lessives concentrées, cette propriété ayant été utilisée lors des premières tentatives d'extraction du pigment.

d) *Absorption des mélanines.*

Mélanine synthétique.

C'est une catechol mélanine. D'après Mason [147] son spectre infra-rouge contient des bandes caractéristiques à 2,79 ; 2,95 ; 3,14 microns (hydrogène des hydroxyles et de — C — H).

Il existe aussi une forte bande à 6,17 μ assignable aux doubles liaisons (— C = 0) et (— C = C —) probablement affectées par conjugaison d'après Randall, Fowler, Fuson et Daryl [196] et Barnes, Gore, Liddel et Williams [7].

En plus cette catechol mélanine montre une absorption générale dans l'ultra-violet et le spectre visible.

Mélanine naturelle.

Edwards et Duntley [76] ont montré que pour les mélanines de la peau de l'Homme, l'absorption est croissante de l'infra-rouge à l'ultra-violet, sans toutefois marquer de bande caractéristique et bien délimitée.

3° *Etude des propriétés chimiques.*

a) *L'analyse* élémentaire a été particulièrement bien étudiée par Mason (Sofia 65) et il a dressé un tableau à double entrée en fonction du substrat, du mode de synthèse et de la mélanine étudiée : tableau IV.

On se rend parfaitement compte qu'il y a une correspondance entre quelques-unes de ces valeurs et celles obtenues par Mason et Lada. Cependant aucune valeur n'est déterminée définitivement car la présence de cendres intervient, ainsi que celle de protéines fixées aux mélanines. De même que des mélanines sont connues pour être liées fermement à de l'eau : 6,8 % du poids sec pour la 3-4 déhydrophénylalanine, mélanine synthétique (Mason) ; 8,3 % de son poids sec pour la catéchol mélanine (Harley - Mason [104], Burton [47], Bu'Lock et Harley - Mason [107]).

Cependant on sait qu'on y trouve :

- du carbone 57 %,
- de l'hydrogène 4 %,
- de l'azote 9 %,
- de l'oxygène 30 %,
- le fer et le cuivre sont des impuretés. (GREESTEIN [96] cité par THIERS) attaquant par la trypsine la protéine du mélanosome de souris, obtient un pigment noir, plus riche en soufre que celui-ci. La solidité de la liaison est telle que le poil noir résiste plus à l'action dissolvante d'un pH alcalin que le poil albinos (PRYOR) [193].

b) *La synthèse.*

Elle a permis à de nombreux auteurs d'obtenir des mélanines artificielles comme nous le verrons plus loin en réalisant l'étude des substrats.

Les premiers Von FURTH et SCHNEIDER [254] mettant en présence de la tyrosine et de la tyrosinase, obtiennent une mélanine.

BERTRAND [25] montre que la tyrosinase est une diastase oxydante agissant sur des corps à groupement phénol (la tyrosine est un acide aminé possédant un groupement phénol).

RAPER [198] obtient par l'action de la tyrosinase sur la tyrosine un pigment très pur qui a les mêmes propriétés que les mélanines.

MASON (Sofia 65) étudie principalement la catechol mélanine et la 3,4 - dihydroxyphénylalanine et la mélanine obtenue à la fois par synthèse enzymatique et par synthèse par autooxydation.

Rappelons qu'en 1951, PLUMMER et KOPAC [187] définissent les conditions nécessaires à la réalisation de cette synthèse. Ce sont :

1) une source d'oxygène moléculaire ;

2) un enzyme oxydant : la tyrosinase ;

3) un substrat phénolique : la tyrosine ;

4) une polymérisation des composés obtenus ;

5) un support matriciel protéique qu'il croyait être les granules cytoplasmiques de CLAUDE ou microsomes.

c) *Propriétés chimiques proprement dites* (d'après LISON) [141] :

— Extrême résistance envers tous les agents chimiques ; ne sont pas modifiées par les acides même concentrés. Elles sont cependant dissoutes par les lessives alcalines concentrées.

— Dépigmentation. Elles sont décolorées par les oxydants les plus variés.

— Caractère réducteur. Les mélanines et les propigments mélaniques manifestent un pouvoir réducteur accentué envers les solutions argentiques et envers le ferricyanure ferrique.

— Les réactions de Schiff, P.A.S., Bauer, Casella, acide performique Schiff, colorant pour lipides et réactions au fer sont toutes négatives.

Tous ces caractères sont repris et étudiés séparément dans le chapitre de l'étude histologique et histochimique.

II. — *LA MELANOGENESE*

1° *Définition et historique.*

La mélanogénèse est la succession de réactions biochimiques qui conduisent à la formation de la mélanine. Le mécanisme est resté longtemps obscur et de nombreuses théories se sont succédées à son sujet dont voici les principales.

a) *Théorie homogène de BRESCHET* [42]

Il attribue aux mélanines une origine sanguine. VIRCHOW en 1847 démontra qu'elle n'était pas fondée.

b) *Théorie parasitaire.*

KLENCK [121] l'échafaude en transmettant des parasites à des chevaux blancs. Puis BAND en 1885 croit à un parasite externe, car la mélanine est souvent cutanée.

c) *Théorie cellulaire.*

— C'est VIRCHOW le premier en 1847 qui pense que le pigment des tumeurs mélaniques résulte d'une activité spéciale des cellules de la tumeur.

— HERTWIG-ROOESLE [111] donne au pigment une origine nucléaire.

— Mais ce sont VON FURTH et SCHNEIDER qui firent admettre cette théorie en 1901 en réalisant la synthèse de la mélanine par action de la tyrosinase sur la tyrosine.

— Théorie de Bruno BLOCH [35]. C'est à cet auteur

que revient le mérite de préciser le mécanisme fermentaire. Cependant les chercheurs étaient dans l'impossibilité de mettre en évidence la dopa et la dopa-oxydase dans le suc cellulaire.

— Théorie de ROPSHAW [212]. Celui-ci écrit l'hypothèse d'un mécanisme de floculation colorée, hypothèse qui n'eut pas de suite.

— Théorie de LERNER et FITZPATRICK [131]. Actuellement on est revenu à une théorie fermentaire. Elle est la seule admise actuellement, elle stipule que la mélanogénèse se déroule par l'action d'enzymes sur un substrat phénolique, en présence d'oxygène moléculaire.

2 *Le substrat.*

a) *Tyrosine.*

Le substrat est la tyrosine, acide aminé aromatique possédant une seule fonction phénol (en 4, si l'atome de carbone portant la chaîne latérale, l'alanine, est numéroté 1) : c'est la 4-hydroxy-phénylalanine (BERTRAND) [24].

La tyrosine doit être libre. La tyrosine des protéines et celle des di ou polypeptides même à tyrosine terminale, ne sont pas attaquées par les tyrosinases animales.

La tyrosine incorporée à une molécule plus complexe ne peut être oxydée que libérée au préalable par une peptidase (d'après MIYAMOTO [164], cité par FITZPATRICK).

La N-méthyl-tyrosine donne avec la tyrosinase une N-méthylmélanine différente par son spectre d'absorption de la mélanine naturelle.

Il en est de même pour la tyrosine obtenue à partir de l'adrénaline (d'après GREEN et RICHTER [195] et HIERMAN [113]), l'adrénaline n'est donc pas un chromogène prémélanique.

Il est à remarquer que des tyrosines substituées jouent *in vitro* le rôle d'inhibiteurs compétitifs d'après LERNER. Soit que l'azote de la chaîne latérale porte un radical acétyl ou formyl (en empêchant peut-être la cyclisation ultérieure en noyau indol) : soit que le noyau benzène porte en 3 une fonction aminée (3-amino tyrosine) ou un atome de fluor. (3-fluoro-tyrosine). Alors l'orthodiphénol ne peut pas être élaboré puisque la deuxième fonction phénol, caractéristique de la dopa, doit se fixer précisément en 3.

En ce qui concerne la phénylalanine dont on connaît l'étroite parenté avec la tyrosine dont elle dérive par l'action

de la phénylalanine-hydroxylase, elle peut servir de substrat car elle n'est pas un phénol. De plus, en raison de sa structure très proche, elle inhibe par compétition l'action de la tyrosine.

Ainsi par exemple, au cours de la phénylacétonurie, où existe dans le sang un excès de phénylalanine par absence génétique de la phénylalanine-hydroxylase, se produit une dépigmentation de la peau et des poils que l'on peut combattre par l'administration de tyrosine ; l'affection génétiquement récessive est le type même d'une inhibition compétitive donnant lieu à un syndrome clinique.

Enfin, notons que d'après SYNDERMANN et coll. [240] (cités par THIERS) l'assombrissement de la chevelure par de fortes doses de tyrosine chez de tels malades est une preuve convaincante de l'origine de la mélanine aux dépens de cet acide aminé.

b) *Substrats autres que tyrosine* (ou sa famille). MASON en a dressé la liste. Les plus connus sont :

- Catechol, étudié par WEEVERS [257 et 258]
- Tannins ROBERTS [210]
  LAMB et SREERANGACHAR [124]
  BOKUCHAVA [37]
- Acide chlorogénique RUDKIN et NELSON [215]
  YOSHIDA [270]
  BERTRAND [20, 21, 22, 23]
  SIZER et PROKESH [234]
- Protéines (levure invertase, trypsine, chymotrypsine, pepsine) SIZER [231, 232, 233]
- Acide 3,4 Dihydroxybenzoïque (PRYOR, RUSSEL et TODD) [194]
- Acide 3,4 Dihydroxyphénylacétique (SCHMALFUSS, HEIDER et WINKELMAN [218]).
- Acide α - hydroxy β 3,4 dihydroxyphényl) propionique (PRYOR, RUSSEL et TODD [195], HACKMANN, PRYOR, et TODD [100]
- 5,6 dihydroxyindole (RAPER [197], BEER [13], MASON [145]).
- 2 carboxy-5,6 dihydroxyindole (RAPER) [197]
- Quercetine (NAGAI [166, 167]
  (SANDO [216]
- Rutine SANDO et LLOYD [217]

- Acide gallique LAMB et SREERANGACHAR [124]
- Oleuropéine CREUSS et SUGIHARA [59]
  CREUSS et ALSBERG [58]
- Acide caffeique POWER et BROWNING [191]
  TUTIN et CLEWER [248]
- Acide dihydrocaffeique ONSLOW [175]
  CZAPEK [61]
- Acide caffetannique ONSLOW [175]
- Daphnétine CZAPEK [61]
- Aesculatine CZAPEK [61]

Enfin dans la série animale d'autres composés phénoliques peuvent servir de substrats pour former des mélanines qui, par cela même, ne sont pas des tyrosine-mélanines. Le groupe des Omnochromes (Insectes et Mollusques) à qui s'est attaché l'Ecole de BUTENANDT (cité par FORREST 1959) dérive de l'oxydation du tryptophane en suivant la chaîne : tryptophane —» formylcynurénine —» cynurénine —» 3 hydroxycynurénine. Or la tyrosinase en présence, *in vitro*, de dopa oxyde la 3 hydroxycynurénine, un aminophénol, en xanthoauratine (BUTENANDT et coll. - 1957, cité par THIERS) ; tandis que la dopaquinone se réduit en dopa, l'aminophénol s'oxyde en pigment jaune ou rouge suivant une réaction couplée d'oxydo réduction classique. On est alors en face d'une phéomélanine. Si l'enzyme paraît identique dans les deux cas (mélanine et phéomélanine), il est probable que le substrat et surtout l'équipement génétique diffèrent.

D'après BRUNET [45], FITZPATRICK et KUKITA [83] « la phéomélanine est le résultat de l'oxydation d'un ortho-amino-phénol par la dopa-quinone, elle-même née de l'action de la tyrosinase sur la dopa ».

3° *Les enzymes.*

a) *Généralités.*

• Ce sont PLUMMER et KOPAC [187] qui les premiers ont défini la synthèse des mélanines. Ils ont mis en évidence la présence d'un enzyme la tyrosinase. En fait le problème ne se réduit pas à la tyrosinase et JARRET [119] l'a fort bien montré en étudiant tous les enzymes de la peau dont celui des cellules dendritiques. Ainsi, interviennent dans la mélanogénèse des phénoloxydases, des tyrosinases et des péroxydases.

b) *Phénoloxydases.*

Par définition les phénoloxydases sont les enzymes oxy-

dant les phénols. Le phénol par leur intermédiaire transmet l'hydrogène de sa fonction phénolique à l'oxygène moléculaire qui donne de l'eau, sans formation d'eau oxygénée. Ce sont des « oxydases aérobiques » selon THIERS.

Par ailleurs, les phénoloxydases sont formées d'une apoprotéine spécifique et d'un groupement prosthétique contenant en principe du cuivre.

c) *Tyrosinases.*

Découverte par BERTRAND [24] dans le suc de Russula nigricans.

• *Rôle :*

Bien avant SZABO [241], Von FURTH et SCHNEIDER en 1901 [254] ont montré la nécessité de la présence de la tyrosinase qui constituerait le mécanisme enzymatique essentiel de la formation de mélanine. MASON (Sofia 65) l'a montré aussi dans le cas de mélanogénèse de synthèse.

• *Extraction :*

Pour en réaliser l'étude, il est nécessaire avant tout de l'extraire ce que fit BURNETT et coll. [46]. Pour cela, il réalise une séparation par électrophorèse des formes multiples de la tyrosinase présente dans les bulbes, à différents stades du cycle de croissance des poils chez des souris. Il constate par ailleurs que les tyrosinases ne sont pas statiques, mais changent au cours du cycle de croissance des cheveux.

L'obtention d'une tyrosinase soluble sans souillure par son substrat protéique et par la mélanine du mélanome, fut un stade intermédiaire d'extraction réalisée par BROWN, WARD et GRIFFIN (cités par THIERS) [43 et 44].

La première étape avait été l'étude de l'équipement enzymatique des tumeurs mélaniques : (GESSARD [92] mélanome du cheval, HOGEBOOM et ADAMS [113], GREENSTEIN [98], LERNER et coll. (cités par THIERS) : mélanome souris.

• *Propriétés et structure des tyrosinases :*

Outre l'extraction, il a fallu exalter le pouvoir tyrosinasique de la peau humaine par une exposition préalable *in vivo* aux rayons ultra-violets pour étudier les propriétés de la tyrosinase (FITZPATRICK, BECKER et coll. [81]).

Enfin la tyrosine marquée et l'auto-historadiographie ont donné des résultats démonstratifs (KUKITA et FITZ-KUKITA [82 et 83]).

Si bien qu'actuellement on peut considérer comme

démontré que la tyrosinase est un enzyme formé par une aprotéine spécifique et un groupement prosthétique contenant du cuivre sous forme réversible réduite et oxydée. Dans le cas qui nous intéresse, son action se passe en deux temps :

— le monophénol (tyrosine) fixe un atome d'oxygène qu'il incorpore dans sa molécule et se transforme en un orthodiphénol (D.O.P.A.) ;

— le diphénol subit une oxydation par deshydrogénation : il se forme de l'eau et une diquinone.

Cependant on tend à penser depuis NELSON et DAWSON [168], LERNER, FITZPATRICK et coll. [132] et MASON que la tyrosinase est un enzyme unique doué d'une double activité : c'est une monophénoloxydase (oxydation de la tyrosine) autant qu'une diphénoloxydase (oxydation de la dopa). D'autre part, il paraît vraisemblable que durant l'oxydation du diphénol, une partie du complexe enzymatique s'active et devient par cela même, susceptible d'oxyder le monophénol. La tyrosinase ne deviendrait capable d'oxyder la tyrosine (monophénol) que dans la limite où elle a déjà oxydé une partie du diphénol (dopa). C'est cette hypothèse qui permet de comprendre que des traces de dopa accélèrent l'oxydation de la tyrosine et raccourcissent le temps de latence de la réaction oxydative tyrosine-dopa.

• *Tyrosinases et ultrastructure :*

RILEY [205] fait l'interprétation histochimique de la synthèse et de la distribution de tyrosinase. Il en déduit que le pourcentage de synthèse de la tyrosinase est un facteur important de la régulation de la mélanogénèse. La tyrosinase est présente dans les mélanosomes sous forme diffusible alors que le substrat est fixé au stroma protéique de l'ornite.

HAMA et HIYAMA [102] vont plus loin dans le domaine de l'ultrastructure. Les prémélanosomes contiendraient une tyrosinase inactive et manqueraient de tyrosine, la mélanisation ne se produisant qu'après adjonction de tyrosine sur son milieu de culture.

d) *Péroxydases.*

Il s'agit là d'acquisitions récentes, faites par OKUN et coll. en 1970 [173]. Après des observations autoradiographiques et histochimiques sur la peroxydase isolée de Mammifères. Cette péroxydase apparaît comme un médiateur possible de la conversion enzymatique tyrosine-dopa, en présence de cofacteur dopa. Bien qu'ayant une forte activité dopa-oxydasique, la tyrosinase ne serait donc pas capable d'oxyder la tyrosine en mélanine.

Le mécanisme serait alors le suivant : la péroxydase pourrait être l'enzyme initial de la synthèse *in vivo* de la mélanine, et la tyrosinase utiliserait la dopa synthétisée par l'activité enzymatique de la péroxydase.

4° *Le mécanisme de la mélanogénèse.*

a) *Généralités.*

Le mécanisme de formation de la mélanine à partir de la 3,4 dihydroxyphénylalanine en présence de phénoloxydase est maintenant connu. L'unité polarysante a été identifiée, il s'agit de l'indole 5,6-quinone (Raper [197 et 198], Califarno [49], Mason [144, 145, 147], Mason et Wrigth [151], Thiers [245] et Ganter [91].

b) *Schéma* (Voir Tableau VI).

c) *Mécanisme proprement dit.*

• *Le substrat :*

C'est la tyrosine ou 4-hydroxyphénylalanine qui est un chromogène incolore.

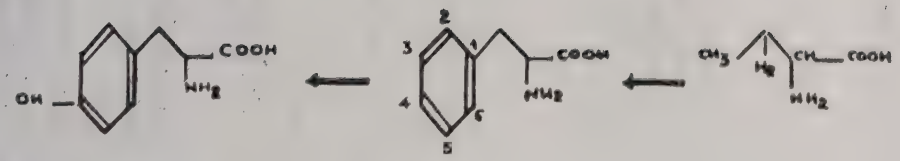
• *Oxydation de la tyrosine par la tyrosinase :*

Dans un premier temps, la tyrosinase oxyde la tyrosine (monophénol) en son diphénol correspondant, la 3,4-dihydroxyphénylaline (dopa).

Cette dernière est un diphénol, c'est-à-dire que les deux fonctions phénol sont placées sur les deux atomes de carbone voisins [3 et 4].

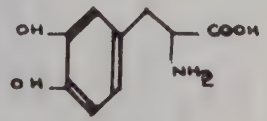
Cette réaction est lente, donc difficile à mettre en évidence, et c'est la raison pour laquelle certains tissus paraissent ne pas pouvoir la réaliser. Lorsqu'on met en présence l'oxygène moléculaire, la tyrosinase et la tyrosine, la consommation en oxygène ne se produit qu'avec un certain retard (période d'induction) spécialement bien étudié par Lerner, Fitzpatrick et coll. [132]. Ces études *in vitro* montrent le raccourcissement très sensible de la période d'induction par les traces de dopa.

La dopa est un corps instable qui se transforme facilement et rapidement en sa quinone (dopaquinone) en s'oxydant par perte de ses hydrogènes phénoliques. Cette transformation peut se faire spontanément ; elle est accélérée par la tyrosinase, mais contrairement à ce que croyait Bruno Bloch, l'enzyme qui oxyde la dopa en sa dopaquinone n'est pas une « dopa-oxydase spécifique », mais est la tyrosinase qui continue son action oxydante. Cette réaction rapide

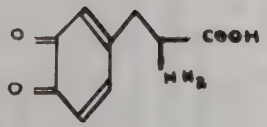


Tyrosine — Phénylalanine — Alanine

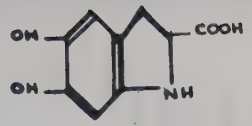
D. O. P. A.
(3, 4-dihydroxyphénylalanine)



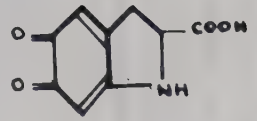
Dopaquinone



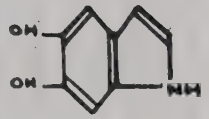
Leucodopachrome



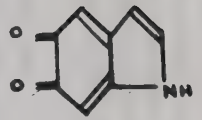
Dopachrome



5, 6-dihydroxy-indol



Indol-5, 6-quinone



MELANINES

Stade des polymères

Les Etapes de la Mélanogénèse (RAPER et MASON)

devient par cela même, facile à mettre en évidence : c'est la raison pour laquelle initialement elle a été la première connue et pour laquelle aussi certains tissus semblent la posséder à l'exclusion de l'activité tyrosinasique.

• *Cyclisation de la chaîne latérale :*

Il existe plusieurs stades intermédiaires :

— *Obtention du leucodopachrome.* Elle se fait à partir de la dopaquinone par une réaction rapide et spontanée par perte de deux atomes d'hydrogène. Le leucodopachrome étant un dopachrome réduit et incolore. Il s'agit d'une réaction de cyclisation en un noyau indol.

— *Obtention du dopachrome.* C'est une réaction d'oxydation par deshydrogénation. Le dopachrome est rouge c'est un acide 5,6-quinone 2,3-dihydro-indol-2-carboxylique.

— *Obtention du* 5,6-*dihydroxyindol.* Elle se réalise par décarboxylation par oxydoréduction interne non enzymatique et relativement lente. Le produit obtenu est instable. Notons qu'injecté par voie intraveineuse au lapin, il est éliminé dans l'urine sous forme d'un chromogène semblable à celui de la mélanurie.

— *Obtention du monomère* = Indol-5,6-quinone par oxydation non enzymatique et rapide. Ce produit est jaune.

— *Polymérisation.* Elle se fait aux dépens de l'indol-5,6-quinone dont les sites réactifs correspondent aux atomes de carbone numérotés 2, 3, 4 et 7. Elle est une oxydation non enzymatique et lente. Il est alors obtenu des mélanines noires ou brunes.

5° *Structure des mélanines.*

a) *Mélanines synthétiques.*

Mason a réalisé une étude sur la catécholmélanine d'une part et sur la pénylalaline mélanine d'autre part.

• *Catecholmélanine* (Mason) [148] :

Le monomère est une hydroxydiquinone (quinone 1,2-4 hydroxy). La polymérisation de ce monomère donne la mélanine. Le polymère est constitué par la répétition de noyaux 1,2-diquinoniques. Les liaisons avec les autres diquinones se réalisant en 4 et 5. Les deux extrémités de chaînes sont des diquinones identiques, mais une seule liaison libre est occupée.

• *Phénylalanine mélanine* (Mason) [148] :

— La première structure en a été suggérée par Bloch et Schaaf [36], elle était basée sur la condensation inter-

moléculaire de la dopa-quinone. Cependant par la suite, il y aurait une condensation intramoléculaire (RAPER [197]) seule cette réaction se passerait d'ailleurs après la réaction intermoléculaire (MASON et WRIGHT [151]).

— DULIERE et RAPER [73] ont rapporté que la formation de mélanine requiert 5,23 atomes d'oxygène par molécule de tyrosine. En fonction de leur formule 5,25 atomes sont requis.

— COHEN [54, 55, 56] propose une mélanine formée par condensation indoxyl-isatine à la suite d'une oxydation enzymatique du cycle azoté. HARLEY-MASON [106] montre que la formule de COHEN et la formation de mélanine sont inexactes et qu'en fait c'est un indigo qui se forme par cette réaction.

— MASON [146] à la suite d'une preuve spectroscopique montre que le 5,6-dihydroxyindole est susceptible d'oxydation enzymatique, le composé formé étant le même que lorsque la dihydroxyphénylalanine est enzymatiquement oxydée. Ceci a été confirmé par BEER et coll. [14-15] et la substance qui est ainsi formée, pourpre, est l'indole - 5-,6-quinone, lequel est considéré comme un monomère dont la polymérisation conduit à la dopamélanine.

Puisque l'indole - 5,6-quinone est le monomère qui polymérise en dopa mélanine, il doit être pour le moins trifonctionnel.

C'est-à-dire être réagissant en deux positions telles que des liaisons inter-moléculaires répétées puissent former un polymère. A partir de cette hypothèse, MASON a complété les résultats concernant la polymérisation de tous les dérivés de substitution du 5,6-dihydroxy-indole, ainsi que leur devenir après oxydation.

C'est le cas pour :

• le 5,6-dihydroxyindol. Il forme de la mélanine après oxydation par la tyrosinase (MASON [146] et BURTON [47 et 48]. Par autooxydation donne un précipité noir (BEER et coll.). [14, 15].

• Le méthyl-1 ; 5,6-dihydroxyindol étudié par BURTON - 1943. Il donne de la mélanine par oxydation tyrosinasique, alors que HARLEY MASON [106] montre que l'oxydation enzymatique donne aussi de la mélanine.

• Le 2-méthyl, 5,6-dihydroxyindol par autooxydation de solution alcaline donne de la mélanine (BURTON et DUFFIELD [48]).

• Les 7 isopropyl, 5,6-dihydroxyindol
4 isopropyl, 5,6-dihydroxyindol
3 méthyl, 4-isopropyl, 5,6-dihydroxyindol
ont un polymère noir d'après BEER et coll [15].

TABLEAU IV

COMPOSITION DES MELANINES DERIVEES DE TYROSINE ET DOPA

(D'après MASON)

Référence	Source de mélanine	Composition (%)			
		C	H	N	Aut
FLORENCE et coll. (1935)	tyrosine tyrosinase			8,43 (a) 8,65 (b)	
RAPER et WORMALL (1925)	tyrosine tyrosinase			8,3 - 8,65 (b) 8,43 (a)	
BLOCH et SCHAAFF (1926)	Dopa-autooxydation Dopa-tyrosinase Dopa-autooxydation			5,34 - 8,3 6,57 7,8	
PIETTRE (1911) (a)	Tyrosine Tyrosinase	57,84 58,47	3,89 3,55	8,54 8,13	cenc (c, d cenc
BURTON (1947)	Dopa - Tyrosinase	61,9 62,1	3,4 3,4	9,2 9,0	
MASON et LADA (1952)	Dopa- Tyrosinase	57,4	3,66	8,18 (a)	1, cen

a. déterminé par le procédé d KJELDAHL
b. " " " " DUMAS

c. carbone-hydrogène et azote, analyses corrigées pour cendre
d. produit traité avec acide chaud et base.

• Enfin, tous les autres dérivés de substitution ne donnent pas de mélanine d'après BEER et coll. [15].

C'est-à-dire :

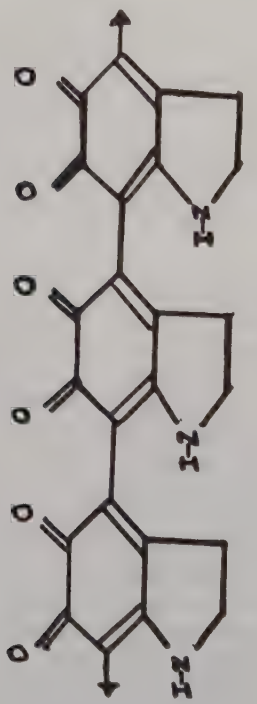
méthyl-3, 5,6-dihydroxyindole ;
carboxy-2, 5,6-dihydroxyindole ;
2-3 diméthyl, 5,6-dihydroxindole ;
3 méthyl, 7 isopropyl, 5,6-dihydroxyindole ;
2 carboxyl, 3 méthyl, 5,6 dihydroxyindole ;
2-4 diméthyl, 5,6 dihydroxyindole ;

— BURTON propose que le 5,6 dihydroxyindole cède son accouplement deshydrogénant en position 4 ou 7 avec oxydation simultanée en 3. La dopa-mélanine est présumée formée par élimination d'eau entre les groupements hydroxyles phénoliques et après polymérisation de telles unités par accouplement deshydrogénant. BURTON présidait sur la base de ces formules que 3-substitué 5,6-dihydroxyindole donnerait de telles mélanines et ceci a été vérifié (BEER et coll. [18]).

— BU'LOCK et HARLEY MASON [107] proposèrent que la polymérisation de l'indole 5,6-quinone pourrait prendre place par répétition des accouplements entre la position 3 d'une molécule et la position 4 ou 7 d'une autre. Dans chacun des cas, trois polymères sont montrés. Comme il est évident qu'une polymérisation impliquant les positions 3 et 4 conduirait à une structure qui ne pourrait pas être coplanaire, celle-ci ne pourrait se former aisément (BU'LOCK et HARLEY MASON [107]), et elle ne serait pas non plus hautement colorée. D'un autre côté la seconde structure a des propriétés stériques satisfaisantes et des structures canoniques telles que son isomère a une structure dans laquelle l'indole est conjugué avec des cycles quinoniques. Des liaisons entre la position 2 libre avec la position 4 (ou 7) d'autres molécules pourraient expliquer l'insolubilité de la dopamélanine en terme d'un polymère tridimensionnel irrégulier. *C'est pourquoi leur formule a été considérée comme la plus satisfaisante structure qui puisse être formulée sur les preuves expérimentales connues et utilisables.* En 1959, MASON propose une formule voisine.

— BU'LOCK et HARLEY MASON [107] ont déjà noté que le polymère doit être largement coplanaire pour justifier sa couleur et sa formation rapide. Le nombre de formules compatibles avec ces deux conditions est évidemment très limité. C'est pourquoi MASON a proposé trois structures, qui sont compatibles avec toutes les nécessités maintenant connues et en même temps compatibles avec la chimie de l'indole 5,6-quinone (MASON et LADA) [150].

Comme la consommation d'oxygène durant la mélanisation du 3,4-dihydroxyphénylalanine est sensible aux conditions environnantes (MASON et WRIGHT), chaque changement dans ces conditions affecte probablement la proportion de de chacune des unités structurales intervenant dans le polymère lui-même.



D. O. P. A. mélanine
(d'après MASON)

b) *Mélanines naturelles.*

• *Généralités :*

Les structures proposées pour la catéchol et la 3,4-dihydroxyphényl-alanine mélanine se réfèrent aux substances

formées *in vitro* à partir de substrats connus en présence d'oxygène, d'enzymes purifiés et des sels connus. Il est intéressant de considérer que la relation entre ces mélanines et celles qui se rencontrent dans la nature, puisse être l'identité des propigments. Il est clair, qu'étant donné le nombre de substrats de phénoloxydases, qu'il peut y avoir plusieurs sortes de mélanines naturelles. Cette variété peut être multipliée par les sortes de grandes molécules auxquelles les mélanines sont naturellement attachées. De même, pour les différents modes de polymérisation et de conjugaison possibles, aussi bien que pour les états différents d'oxydoréduction dont les mélanines sont capables (FIGGE) [80]. Il n'a pas cependant été possible chimiquement de dégrader des mélanines naturelles en fragments identifiables du pigment. Pour cette raison les identités des propigments ont dû être déduites des diphénols existant avec, ou probablement produits en présence de phénoloxydases. C'est sur de telles bases que la 3,4-dihydroxyphénylalanine est largement considérée comme étant le propigment dans les mélanocytes des Mammifères.

Les mélanines naturelles sont conjuguées aux protéines. C'est PIETTRE [184] qui le premier l'a montré. Par la suite WAELSCH [255], BLOCH et SCHAAF [36], BARRENSCHEN et PRING [9], PRYOR [193], GREENSTEIN, TURNER et JENRETTE [97], SERRA [223], enfin MASON, KAHLER, Mac CARDLE et DALTON [149] l'ont signalé.

ROBSON et SWAN [211] définissent bien le problème en écrivant qu'il n'existe « *aucune preuve que les mélanines synthétiques soient identiques en structure aux mélanines naturelles cependant qu'aucun pourcentage de similitude semble probable* ». Cependant il montre à la suite de NICOLAUS [182 et 183] qu'il y a des similitudes. Il réalise pour cela des expériences sur des échantillons de (±) -dopa marquée (de 80 à 89 %) sur l'atome α hydrogène ou sur les 2 atomes d'hydrogène (α et β) qu'il convertit en mélanine soit par autooxydation, soit enzymatiquement. En calculant la mélanine formée et l'oxyde de carbone dégagé, il tire plusieurs conclusions. Ainsi la dopamélanine contient des unités dopachromés, ensuite il y a plus d'unités indole - 5,6-quinone qui sont liées en position 2 qu'en 3. Enfin, dans la mélanine enzymatique, il y a plus d'unités liées en position 2 et 3 que dans avec une mélanine d'autooxydation.

• *La mélanine du mélanome d'HARDING-PASSEY :*

(HEMPEL [108]) est obtenue *in vivo* sur des souris portant des mélanomes d'Harding-Passey. On leur a injecté simultanément de la dopa marquée par $\frac{3}{1}$ H et $\frac{14}{6}$ C. Les ani-

maux étaient sacrifiés deux ou dix jours après l'injection. La radioactivité des mélanomes des glandes médullo-surrénales et des foies fut mesurée. Les résultats donnent des informations sur la structure des mélanines, sans les difficultés résultant de l'extraction des mélanines. Ainsi une structure a pu être donnée.

On voit à l'issue de l'étude de la structure des mélanines que le problème est loin d'être résolu. On connaît seulement une séquence de formation du monomère. Cependant, les mélanines naturelles dérivées de la 3,4-dihydroxyphélalanine peuvent être composées d'unités lesquelles n'ont pas été produites par un processus complet formant la mélanine *in vitro*, mais sont obtenus à partir d'intermédiaires.

C'est pourquoi les structures de ces substances se formant naturellement peuvent être totalement différentes de celles jusqu'alors proposées.

6° *Site de la mélanogenèse.*

a) *Site histologique.*

Quelles sont les cellules qui élaborent de la mélanine ? Bien sûr demeurent les mélanocytes, mais il a fallu le démontrer. Nous avons déjà cité plusieurs auteurs qui en ont fait la preuve. Rappelons-les ici brièvement : c'est Bloch qui par la dopa réaction mit la mélanogenèse en évidence dans des cellules dopa +. Et c'est Rawles qui mit en évidence l'origine embryologique des mélanocytes. Masson [154] quant à lui dit que les mélanines sont élaborées dans les mélanoblastes, cellules douées de propriétés réductrices et dont on distingue deux types :

— *les monoblastes fixes* qui élaborent la mélanine au cours de la période embryonnaire. Mais ils cessent de le faire après la naissance, ne faisant chez l'adulte que retenir ce pigment. Ces mélanoblastes fixes sont les mélanoblastes de l'œil (choroïde, iris et rétine), des méninges et plexus choroïdes et de la tache mongolique.

— *Les mélanoblastes variables* continuant à élaborer de la mélanine pendant toute la vie. Ce sont les mélanoblastes épidermiques. Ces mélanoblastes contiennent la dopa-oxydase, enzyme qui catalyse l'élaboration de la mélanine ; ce sont les seules cellules positives à la dopa-réaction.

b) *Site cellulaire*, c'est-à-dire site ultrastructural de la biosynthèse.

• *Différentes théories concernant l'origine des mélanosomes* d'après Ganter [91] et Conroy [57] :

— *Théorie de l'origine nucléaire* qui stipule que les mélanosomes sont composés de matériel nucléaire expulsé. Ceci d'après MEIROWSKY [155] et MEIROWSKY FREEMAN [156].

— *Théorie de l'origine mitochondrienne* qui avance que les mélanosomes sont des mitochondries modifiées. Ce sont :

DU BUY, SHOWACRE et HESSELBACH [71] ;
DU BUY, WOODS, BURCK et LACKLEY [72] ;
WOODS, BURCK et HUNTER [267] ;
WOODS, DU BUY, BURK et HESSELBACH [268] qui l'ont émise.

— *Théorie de l'origine golgienne* qui montre que les prémélanosomes sont formés dans l'appareil de Golgi :

BARNICOT et BIRBECK [8] ;
BIRBECK et BARNICOT [31] ;
MISHIMA [160] ;
SEIJI, FITZPATRICK et BIRBECK [221] ;
WELLINGS et SIEGEL [261] ;
DROCHMANS [69] ;
SEIJI-SHIMAO, BIRBECK, FITZPATRICK [222] ;
ROSE [213].

— *Théorie de l'origine ribosomique* émise par MOYER [165]. Elle émet que le site de la synthèse de protéine de la matrice du mélanosome est la ribonucléine cytoplasmique.

— *Théorie de l'origine diffuse* de DELAGE et PORTE [66]. Pour certains types de mélanine, la substance matricielle fibrillaire des grains de mélanine se formerait de façon diffuse, sans participation des organites cellulaires. Cela serait le cas pour certaines mélanines de Poissons.

• *Discussion de ces théories :*

Les théories de l'origine nucléaire et mitochondrienne n'ont pas eu une grande audience. De même, celle de l'origine diffuse de DELAGE, qui ne concerne que les mélanophores de Poissons. Par contre, nous nous attarderons sur la théorie golgienne en apportant des arguments pour et des arguments contre.

Les preuves expérimentales indiquent que mélanosomes et mitochondries sont des constituants cytoplasmiques distincts au sein des cellules mélanoformatrices et que chacun ont leurs propres enzymes caractéristiques d'après SEIJI, FITZPATRICK et BIRBECK [221].

SEIJI et IWASHITA [220] étudièrent l'activité des enzymes d'organelles fractionnés (mélanosomes - mitochondries - surfaces membranaires lisses et rugueuses et ribosomes) obtenus à partir de mélanomes (HARDING PASSEY et B 16 de souris).

L'activité de la tyrosinase est démontrée dans les mélanosomes, les membranes à surface lisse et rugueuse et les ribosomes. Les auteurs en concluent que la distribution de la tyrosinase résulte d'une synthèse dans de petits granules qui sont probablement des ribosomes et qui sont par la suite transférés à travers le réticulum endoplasmique, vers la surface du Golgi où ils sont assemblés. Chaque unité acquiert alors une enveloppe membraneuse dans laquelle la tyrosinase condensée est incorporée dans ou sur la structure matricielle.

Birbeck [30] en conclut que le Golgi est le site de la synthèse des granules de mélanine dans les mélanocytes de bulbe pileux humain. Il rapporte que les structures morphologiquement discernables le plus précocement, sont de petites vésicules d'approximativement 0,05 µ de diamètre. Elles forment de plus grandes vésicules par fusion ou par accroissement. Initialement ces vésicules sont sphériques, puis plus tard elles deviennent plus allongées jusqu'à ce qu'elles atteignent approximativement la taille de grains de mélanine mature. La membrane externe de la vésicule a la structure de membrane type de Roberston. Les membranes internes ne possèdent pas cette structure.

Moyer [165] a étudié les détails du développement du mélanosome et sa structure dans l'épithélium pigmentaire rétinien de souris. Il a examiné également des échantillons de mélanomes d'Harding Passey, de B 16 et de S 91 de souris. Il compare ses observations avec le processus normal de pigmentation comme cela arrive dans la rétine de souris. Excepté pour l'absence d'uniformité de taille, les mélanosomes dans l'épithélium pigmentaire rétinien sont identiques aux mélanocytes dérivés de la crête neurale et de la choroïde, des follicules des cheveux et de la surface externe de l'iris.

L'épithélium pigmentaire de la rétine est dérivé de la cupule optique plutôt que de la crête neurale. Les prémélanosomes de souris sont identifiables en premier comme agrégats de fibres parallèles à peine discernables et associés aux ribosomes. Les fibres deviennent progressivement plus épaisses et le matériel dense aux électrons apparaît dans les prémélanosomes au cours de leur murissement. Ce matériel probablement mélanoprotéique s'accumule à l'intérieur des prémélanosomes jusqu'à ce que sa structure fibreuse s'obscurcisse. Apparemment la matrice protéinique des mélanosomes des follicules pileux de l'Homme d'après Birbeck [30], et des lapins d'après Bonse [38], présente un profil ressemblant à une structure en spirale en section transversale, plutôt que des fibres parallèles comme chez la souris.

Moyer en conclut que la matrice protéique du prémélanosome est synthétisée sur des ribosomes. Les prémélanosomes peuvent être libérés directement dans le cytoplasme ou indirectement après avoir été canalisés à travers le reticulum endoplasmique depuis le complexe de Golgi à partir duquel ils ont été libérés. Le processus est probablement dépendant de la capacité de synthèse de protéine du mélanocyte.

Demopoulos et Yuen [67] étudiant les mélanosomes de la tumeur S 91 de la souris apportent des arguments contre la théorie golgienne en se basant sur la mensuration au microscope électronique des membranes de ces mélanoses. Ainsi, l'ultrastructure interne de la granulation est constituée de plusieurs bandes longitudinales de largeur variable (160 à 420 Å) présentent parfois une nette périodicité. Elle est entourée d'une membrane différente de celle des vacuoles de Golgi, mais comparable à celle des mitochondries. En effet, dans les mélanosomes et les mitochondries, la membrane est constituée de globules apposés de 60 à 55 Å de diamètre, parfois disposés en spirale. Alors que dans les vacuoles de Golgi la membrane, également constituée de globules, est plus épaisse (75 à 80 Å). Il semble donc difficile d'admettre que les mélanosomes puissent se développer à partir des vacuoles de Golgi. D'après Demopoulos toujours, l'origine aux dépens des mitochondries paraît plus probable.

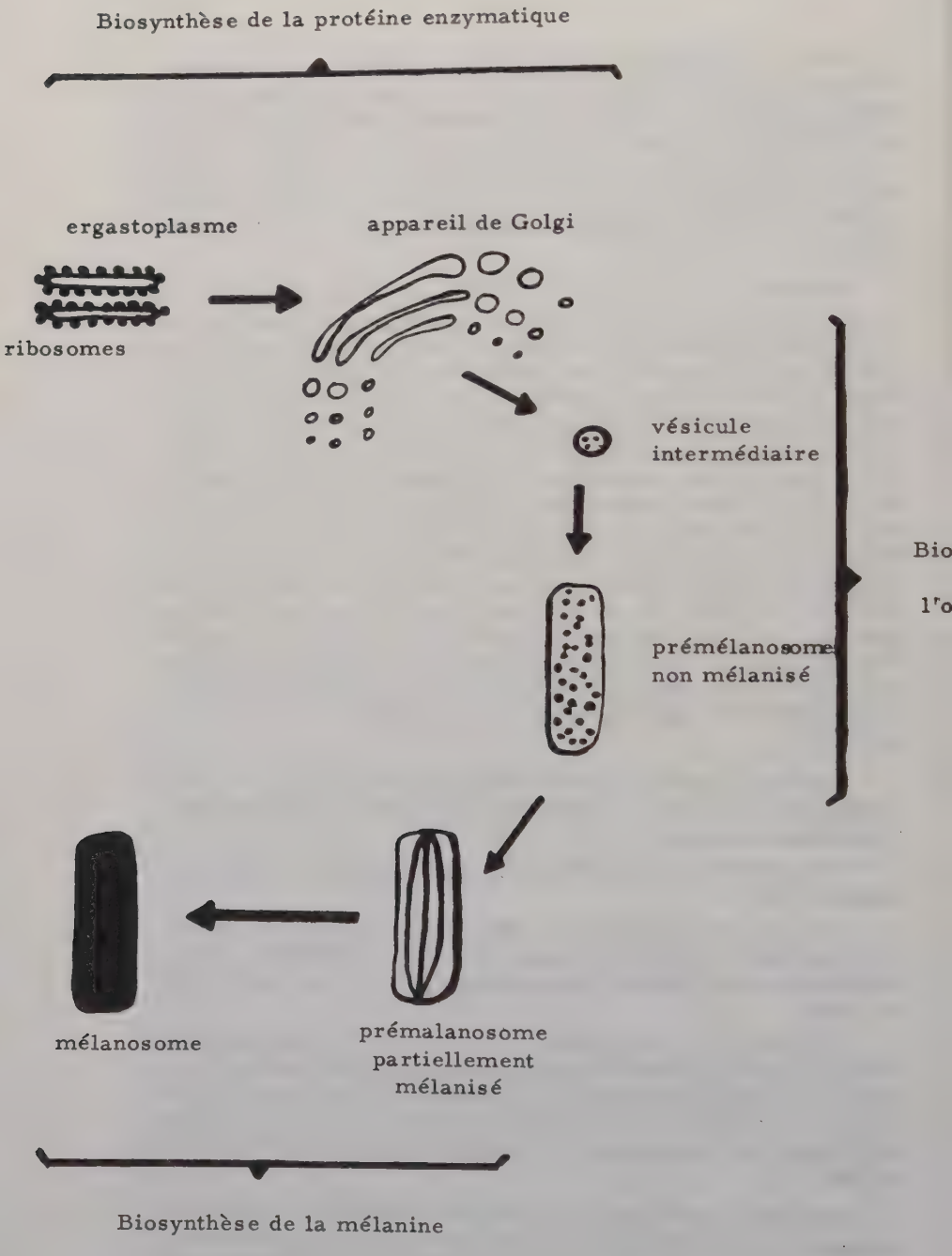
Quoi qu'il en soit, la théorie golgienne paraît plus vraisemblable et pour le démontrer il faudrait des confirmations dans ce sens.

• *Biosynthèse de la mélanine* d'après Poirier et Nunez-Dispot [188].

Ceux-ci ont parfaitement bien schématisé le processus et il correspond très bien avec tous les mécanismes ultrastructuraux de synthèse enzymatique et protéique connus à ce jour.

— *Stade de biosynthèse de la protéine enzymatique.* C'est le stade au cours duquel les polypeptides sont synthétisés (par l'ergastoplasme) et condensés (par l'appareil de Golgi) en structures secondaires et tertiaires des molécules protéiques enzymatiques : c'est-à-dire en molécule de tyrosinase.

Poirier signale que l'on emploie souvent à ce stade le terme de « protyrosinase » signifiant que bien qu'entièrement synthétisées, les molécules ne sont pas alignées en vue de l'activité catalytique et que la recherche histoenzymologique de la tyrosinase est négative.



Formation des mélanosomes et site de la mélanogénèse

(d'après POIRIER et NUNEZ-DISPOT)

— *Stade de biosynthèse de l'organite.* Au cours de celui-ci, les molécules enzymatiques sont réparties en quanta (par le golgi), chaque quantum s'entourant d'une membrane constituant les vésicules intermédiaires).

Puis ces vésicules grandissent et acquièrent un système de membranes internes sur lequel les molécules de tyrosinase s'alignent de façon ordonnée (prémélanosomes jeunes, non mélanisés).

— *Stade de la biosynthèse de la mélanine proprement dite.* L'oxydation de la tyrosine par les molécules ordonnées de tyrosinase dans le prémélanosome commence et se traduit par l'apparition de la mélanine sur les membranes internes de l'organite (prémélanosomes intermédiaires et tardifs partiellement mélanisés). A ce moment la détection histoenzymologique de la tyrosinase est positive.

Finalement le dépôt de mélanine devient complet : c'est le mélanosome. Alors la tyrosinase n'est plus retrouvée.

Ainsi la fonction essentielle du mélanocyte est de synthétiser de la mélanine. Cela est réalisé par un processus identique à celui de la synthèse des protéines dans n'importe quelle cellule.

CHAPITRE IV

MOYENS D'ETUDE HISTOLOGIQUE DES MELANOCYTES

Les moyens d'étude histologique des mélanocytes sont des moyens histologiques et histochimiques. Nous n'oublierons pas de mentionner le premier d'entre eux (historiquement), la Dopa-réaction de Bruno Bloch.

I. — *MOYENS D'ETUDE IN VIVO*

Snell [235] a mis au point une technique qui permet l'étude facile et *in vivo* des mélanocytes. Il utilise des souris noires C 57 de 3 semaines auxquelles il injecte du Nembutal à raison de 80 mg/kg en intrapéritonéale. Puis il leur lave la tête à la glycérine, ensuite les auricules sont mis sur lame et leurs bords sont maintenus avec un ciment caoutchouté. Le reste du corps est lié au statif. Il utilise des objectifs de x10, x25, x40. Ce procédé est particulièrement ingénieux, puisque les mélanocytes sont étudiés *in vivo* et directement.

La même technique est mise à profit sur l'aile ou la membrane interfémorale de chauve-souris.

II. — *METHODES D'ETUDE EN COUPES*

1° *Préparations histologiques classiques.*

Sur des préparations, après inclusion à la paraffine et coloration à l'hémalun-éosine, les mélanocytes se présentent comme des cellules à noyau foncé, à cytoplasme optiquement vide, d'où le nom de « *cellules claires de Masson* ».

2° *Visualisation des noyaux.*

Shukla [226] est le promoteur d'une technique de visualisation des noyaux des mélanocytes basaux de la peau de cobaye à pigmentation noire, ainsi que de la peau humaine. Il en réalise l'observation à l'aide d'un microscope à champ brillant.

3° *Technique d'étude mixte* « in vivo » *et* « in vitro » *des mélanocytes et de leurs mélanosomes.*

HENKIND et JAY [109 - 110] ont induit la migration limbique des mélanocytes chez des cobayes. Pour cela, ils injectent de la colchicine dans la cornée ou de l'alloxane dans la chambre antérieure de l'œil. Cela provoque :

— la vascularisation de la cornée ;
— la migration de mélanocytes pigmentés dans la couche basale de l'épithélium cornéen ;
— pour les yeux traités à la colchicine, la coloration de la cornée avec de la fluorescéine est apparente dans les 24 heures ;
— pour les yeux traités à l'alloxane, un œdème du stroma de la cornée est mis en évidence.

Ainsi, à l'aide d'une technique simple et d'une coloration à la fluorescéine, HENKIND et JAY peuvent faire des études intéressantes sur les mélanocytes et plus particulièrement le transfert des mélanosomes aux cellules voisines.

III. — *ETUDES HISTOCHIMIQUES*

L'essentiel des méthodes d'étude des mélanocytes est représenté par des méthodes histochimiques, et ce en raison de la présence des mélanines. En effet, celles-ci sont noires et si l'on veut étudier la cellule il faut avant tout les faire disparaître.

1° *Blanchiment des mélanines.*

Ceci est d'ailleurs un caractère de différenciation des mélanines vis-à-vis des autres pigments et singulièrement des céroïdes et lipofuchsines.

GABE [90] cite comme agents de blanchiment : l'eau oxygénée, le chlore, le brome, l'acide chlorhydrique, le bioxyde de chlore, le trioxyde de chrome, le permanganate de potassium et les acides performique et peracétique, enfin le diaphanol de Schulze. Le comportement des mélanines vis-à-vis d'eux n'est pas uniforme. C'est ainsi que d'après GANTER et JOLLES il y aurait des variations dans les délais nécessaires au blanchiment des mélanines suivant leur origine. La plupart le sont en moins de 24 heures avec le chlorate ou le permanganate à 0,5 %, ou l'eau oxygénée à 10 %. GANTER admet que toutes les mélanines habituelles sont blanchies dans un délai de 48 heures. Ce délai est considéré comme un critère de différenciation avec les lipopigments qui ne sont pas décolorés dans des conditions identiques.

Les oxydants les plus utiles sont l'acide performique et le peracétique ; ils blanchissent la plupart des mélanines en 1 à 24 heures et les mélanines oculaires en 16 à 24 heures (LILLIE) [135], alors qu'elles sont plus résistantes.

Notons que les oxydants faibles ne parviennent pas à décolorer les mélanines et que d'autre part l'acide chromique à 5 % amène un blanchiment irrégulier en 1 à 3 heures.

A titre indicatif remarquons que :

• le blanchiment est différent de la solubilisation, car après le premier l'argentaffinité persiste (PEARSE) [178] ;

• le blanchiment s'obtient plus facilement sur coupes à la paraffine que sur coupes à congélation.

Les caractères de différenciation avec l'hémozoïne, les lipopigments et le pigment du syndrome de Dubin-Johnson sont présentés sur le tableau des caractères et propriétés physiques des principaux pigments (d'après GANTER et JOLLES).

2° *Réactions histochimiques proprement dites* (d'après GANTER).

A. — *REACTION BASEES SUR LE CARACTERE REDUCTEUR*

a) *Réactions des sels d'argents ou « argentaffinité ».*

• *Argyrophylie.*

Des réactions sont basées sur l'emploi d'une part d'un sel d'argent et d'autre part d'un réducteur (formol). On effectue une réduction sur coupe d'un sel d'argent incolore, ce qui entraîne la précipitation d'argent métallique réduit de couleur noire sur certaines structures.

N'ayant aucune spécificité chimique, ces réactions ont une signification obscure. On invoque des mécanismes physiques pour expliquer la localisation des dépôts d'argent. On dit que les structures ainsi imprégnées sont « argyrophyles » ou « argentophiles ». Les méthodes utilisées sont celles de FONTANA, BIELCHOWSKY, DEL RIO HORTEGA, ACHUGARRO (cités par LISON) [141].

• *Argentaffinité.*

Là par contre le problème est différent car aucun corps réducteur tel le formol n'est utilisé.

— *Généralité :* C'est Bizzozero [34] qui établit que les granulations de mélanine réduisent le citrate d'argent à l'état

d'argent métallique noir. Et selon MIESCHER [154] la substance noire qui résulte de la réduction du citrate d'argent est un complexe d'argent et de mélanine. MASSON [152] a préconisé le citrate d'argent ammoniacal qui s'est révélé plus sensible que le réactif de Bizzozero et qui noircit tous les granules de mélanine. La nature du produit de réduction du nitrate d'argent par les mélanines n'est pas encore connue de façon précise et WINKELMAN et SCHMITT [264] ont proposé récemment une explication.

— *Valeur de la réaction et spécificité.* La réaction est très sensible alors que la spécificité est plus discutée. En milieu alcalin notamment cette réaction ne permet pas de conclure à la présence de mélanine. En milieu neutre ou acide, la réaction est plus spécifique d'après LILLIE [140]. Il est à noter que les mélanines présentent une argentaffinité aussi bien après fixation au formol qu'en mélange de Bouin.

— *Procédés techniques.* Il en existe de différents cités dans le formulaire de GANTER et JOLLES [91]. Ce sont soit :

- des solutions alcalines,
- des techniques utilisant une solution de nitrate d'argent ammoniacal (FONTANA par exemple),
- des techniques utilisant une solution d'argent méthénamine (GOMORI par exemple).

Ces dernières sont un peu moins sensibles et nécessitent d'après LILLIE des temps d'action plus longs.

- des solutions neutres. Procédés de HUECK [118] ou de LIGNAC [134].
- des solutions acides préconisées par :
  — GIROUD et coll. [93]
  — CLARA [52]
  — LILLIE [140] encore plus acide.

Sans être absolument spécifique des mélanines, l'acide ascorbique et les O. diphénols sont également mis en évidence par ces procédés. Les réactions effectuées au moyen de ces solutions (pH4) permettent de les caractériser de façon très sûre. Par contre ces solutions ne sont pas réduites par toutes les mélanines.

b) *Réactions de réduction des sels ferriques* .
(R. de SCHMORL)

En présence de substances réductrices, le ferricyanure ferrique, incolore, est transformé en ferricyanure ferreux ou bleu de Turnbull.

Cette réaction a été introduite en histochimie par GOLODETZ et UNNA [94] lequel précisa par la suite qu'elle était positive avec les mélanines cutanées.

La réaction de Schmorl est celle qui permet aux mélanines de réduire le mélange chlorure ferrique-ferricyanure de potassium en ferrocyanure ferrique. Elle est décrite dans le formulaire de GANTER et JOLLES [91]. Cette réaction est plus sensible que la précédente et colore en bleu intense de fines granulations de mélanine qui peuvent échapper à la détection par réduction des sels d'argent (d'après PEARSE) [178]. Elle n'est cependant pas spécifique, mettant en évidence également des lipofuchsines et granulations chromaffines et entéro-chromaffines (sérotonine et catecholamines). D'autre part, LILLIE [140] a montré que la réaction est moins intense au niveau des mélanines oculaires qu'au niveau des mélanines nerveuses.

c) *Autres réactions de réduction.*

— *Réduction du chlorure d'or.* LANGERHANS [125], puis OBERNDORFER [171] et LILLIE [140] ont signalé la réduction du chlorure d'or par la mélanine cutanée. Notons toutefois que ceci est légèrement inexact. En effet, cette réaction ne concerne que les cellules de Langerhans et pas les mélanocytes (au sens restreint). Cela est d'ailleurs la raison pour laquelle LANGERHANS et OBERNDORFER ne le signalent que pour les mélanocytes cutanés. Les cellules de Langerhans n'existant que dans la peau, au contraire des mélanocytes.

— *Réduction de l'acide osmique.* BARLOW [6] puis de nombreux autres auteurs en font mention. Mais cette réaction est inhibée par un traitement préalable à l'acide chromique ou à l'eau de chlore. Cette réaction est peu utilisée.

B. — *REACTION DE CAPTURE DES IONS FERREUX.*
(Réaction de LILLIE)

a) *Principe et mécanisme.*

Les mélanines forment, avec des ions ferreux, des complexes non colorés. Ceux-ci sont mis en évidence par la réaction au bleu de Turnbull, avec le ferricyanure de potassium. Le mécanisme est hypothétique en dépit des théories de LILLIE et FEIGL (cités par GANTER). Néanmoins, la structure catécholique produite par réduction de la mélanine par l'hydrosulfite serait capable de fixer les ions ferreux.

b) *Spécificité.*

Cette réaction paraît la plus spécifique de toutes les réactions des mélanines. Les contrôles effectués par LILLIE ont montré qu'aucun des pigments susceptibles de poser un problème diagnostique (lipofuchsine, hémosidérine, hématoïdine, céroïdes, pseudomélanine colique, granulations entérochromaffines), ne prennent la coloration bleu-vert intense donnée par les mélanines. Il faut noter toutefois, que d'après GANTER et JOLLES, certaines mélanines ne se colorent qu'en vert ou jaune verdâtre, et que certains phagocytes contenant à la fois l'hémosidérine et des lipofuchsines donnent également cette coloration vert sombre.

c) *Procédés techniques.*

Le formol et les fixateurs alcooliques contenant ou non du sublimé ou du nitrate de plomb, peuvent être indifféremment utilisés. Les fixateurs chromés inhibent la réaction.

GANTER décrit dans son formulaire la technique de LILLIE [139].

C. — *BASOHILIE.*

a) *Généralités.*

Un colorant basique est un sel dont le cation (+) est coloré et l'anion (—) est incolore. La fixation de ce cation coloré sur un groupement acide ionisé (COO —) définit une réaction basophile. En histochimie, le terme de « basophilie » est réservé à la coloration d'une substance par un colorant basique dans des conditions déterminées. Car de nombreux facteurs interviennent dans la fixation du colorant ; et la modification de l'un ou l'autre de ces facteurs ou de plusieurs d'entre eux peut changer complètement cette fixation. Au point que dans certaines conditions de pH les mélanines, qui sont des zwitterions, sont susceptibles de se lier non plus à des colorants acides mais basiques.

L'on peut en déduire que la basophilie indique la présence de groupements acides d'autant plus forts que la coloration par les colorants basiques persiste à des pH plus bas.

b) *Basophilie des mélanines.*

Les travaux de BARLOW [6] et DREYSEL [68] ont montré que la mélanine cutanée se colore en vert par le bleu de méthylène. Plus tard, il a été montré que d'autres colorants provoquaient la même réaction.

L'interprétation de la réaction a été controversée car HUECK [118] montra qu'après blanchiment, les mélanines à la différence des lipofuchsines, ne prennent plus ni le bleu de Nil, ni aucun colorant basique. A tel point, que beaucoup d'auteurs ont estimé que les mélanines n'étaient pas réellement basophiles. La coloration verte étant due à la superposition de la teinte brune naturelle de la mélanine et de la coloration bleue des structures cellulaires voisines. Mais LILLIE [136] à la suite d'observations effectuées sur coupes colorées par la thionine ou le bleu de méthylène à pH 1 et après utilisation de réactions de blocage, conclut à une basophilie réelle des mélanines. Celle-ci serait liée à la présence dans la molécule de mélanine de groupements fortement acides, vraisemblablement dus à des groupements sulfuriques. Le blanchiment du pigment par oxydation détruit effectivement cette basophilie, comme l'avait déjà observé HUEK.

La basophilie des mélanines est loin d'être spécifique puisqu'il en est de même pour les lipofuchsines entre autres. Avec la thionine à pH 1 cependant, seules les granulations des mastocytes seraient également colorées, ce qui donnerait une grande valeur à cette réaction.

c) *Technique.*

Soit le bleu de toluidine ou le bleu de méthylène en solutions acides, soit la thionine à pH 1, soit le bleu de Nil en solution sulfurique. LILLIE [138] indique un procédé d'extraction à l'acétone pour différencier cette basophilie au bleu de Nil de celle des lopofuchsines.

D. — *REACTIONS DU NOYAU INDOLE*

En effet la mélanine est un polymère de la dopamine, laquelle possède un noyau indole. C'est pourquoi on a cherché à caractériser ce noyau par ses réactions colorées.

Déjà LEA en 1949 [128] rapporte une réaction d'EHRLICH positive dans les urines de sujets atteints de mélanurie ; mais par contre la réaction est négative sur différentes mélanines.

LILLIE [137] précise histochimiquement que certaines mélanines cutanées et oculaires se colorent effectivement en noir ou vert noirâtre avec la p. diméthylaminobenzoaldéhyde à 5 % en solution acétique-chlorhydrique. D'autres mélanines, comme celles du cortex des poils, se colorent moins nettement. Ceci tendrait à prouver que la réaction est posi-

tive surtout dans les pigments de formation récente. La mélanine des formations nerveuses, elle, ne se colore pas.

GANTER décrit dans son formulaire la technique de LILLIE.

E. — *AUTRES REACTIONS*

a) *Réaction de Schiff.*

LISON [141], LILLIE [135], BARKA et ANDERSON [5], indiquent que les mélanines ne se colorent pas avec le réactif de Schiff après oxydation périodique.

GANTER et JOLLES constatent sur des mélanines cutanés et des mélanomes que la réaction est également négative après oxydation par l'acide chromique, le permanganate de potassium et l'acide performique, et ce d'après LILLIE [135].

b) P.S.A.

Mac MANUS a observé que la mélanine pourrait être P. A. S. positive, alors que PEARSE [178] signale que cette réaction n'est positive que dans les mélanophages. C'est ainsi que cette réaction n'indiquerait pas la présence d'un constituant glucidique comme le croyait Mac MANUS. Au contraire, elle témoignerait plus vraisemblablement d'un revêtement de lipides insaturés, oxydables par l'acide périodique, autour du pigment.

c) *Réactions négatives.*

D'après GANTER et JOLLES, les mélanines ne se colorent pas par les réactifs du fer, ni par les colorations des lipides. Elles ne sont pas acido-résistantes, ni positives à la diazoréaction, à la réaction du xanthydrol ni à celle du tétrazolium alcalin.

A l'aide de toutes ces réactions chimiques, on peut réaliser le diagnostic différentiel avec les lipopigments. Ce qui est réalisé dans le tableau V.

IV. — *DOPA-REACTION : ETUDE HISTOENZYMOLOGIQUE*

C'est BLOCH qui le premier décrit cette réaction en 1917. plus tard elle est modifiée par LAIDLAW et BLACKBERG en 1932.

TABLEAU V

Réactions histologiques des mélanines, lipopigments et pigments voisins

	Réactions histologiques	Mélanines	Lipopigments		P. du de DUBIN JOHNSON	P. de mélan coliq
			Cérofdes	Lipofusch		
Générales	R. argentaffines	+	0 à ±	+	+	0 et
	R. de réduction (type Schmorl)	+	0	+	+	0 et
	R. de capture des ions ferreux de Lillie	+	0	0	0	0
	Basophilie	+ (thionine pH 1)	+ lente	++ rapide	+	0
II - Réactions particulières	R. du noyau indole (p. diméthyl aminobenzaldéhyde)	±	0	0	0	0
	R. P.A.S.	0	±	+	0 ou +	0 et
	R. Perls	0	0	0	0	0
	Coloration par Oil red 0 ou noir soudan B	0	++	+ à ±	0 ou +	0 et
	R. $O_s O_4$	+	+			0 et
	Acido-résistance	0	++	+ à ±	0 ou +	0 et
	R. plasmale	0	±	±		
	R. de Lillie au sulfate de bleu de nil + acétone	+ vert foncé		0	0 ou +	0 ou
	Coloration par l'hématoxyline-alun de chrome	0	0	0 ou +	0	0
	R. de Hueck	0		+ rouge violacé	0	
	R. de Mallory (hémofuchsine)	± à + (rouge foncé	± à + (brun rouge)	± à + (brun rouge)	0 (brun)	
	R. à l'acide performique Schiff	0	+	+	0 ou +	

Les cellules mélanoformatrices peuvent être caractérisées par la tyrosinase ou dopa-oxydase qui est l'enzyme principal de la mélanogénèse.

Ceci si l'on fait incuber des coupes à congélation (provenant de pièces fraîches ou très brièvement fixées par le formol) dans une solution tamponnée de D.O.P.A. Une seule exception est représentée par les leucocytes polynucléaires où la posivité de la réaction s'explique par la présence dans ces cellules de polyphénoloxydase, enzyme catalysant l'oxydation de nombreux phénols en produits colorés. D'autre part, certaines cellules renfermant de la mélanine ne sont pas dopa +, qu'il s'agisse de cellules ayant seulement phagocyté la mélanine ou de mélanocytes vrais (sécrétant la mélanine). Mais ces mélanocytes sont en phase de repos et ayant utilisé leur dopaoxydase, sont bourrées de pigment.

En 1960, Mishima [159] combine cette dopa-réaction à la réaction de réduction du nitrate d'argent ammoniacal, mettant ainsi en évidence à la fois les sécrétions des mélanoblastes (dopa-mélanine) et les mélanines des mélanocytes et mélanophages, normales ou pathologiques.

CONCLUSION

CONNAISSANCES ACTUELLES SUR LES RAPPORTS ENTRE MASTOCYTE, CELLULE DE LANGERHANS ET MELANOCYTE

Il est un paradoxe particulièrement frappant lorsque l'on étudie le mélanocyte. En effet, s'il est simple de définir le mélanocyte par rapport aux autres cellules constitutives d'un organisme animal, il est bien moins simple de définir les mélanocytes par rapport à leur groupe. C'est ainsi qu'à l'intérieur du groupe mélanocytes sont rangés mélanophores, mélanocytes, cellules de Langerhans et même autrefois les mastocytes.

En ce qui concerne les mélanophores par rapport aux mélanocytes, il s'agit simplement d'une division zoologique. Les mélanophores existant chez les Vertébrés inférieurs sont des « super-mélanocytes » car ils peuvent déformer eux-mêmes leur cellule. Alors que les mélanocytes sont des « mélanophores sous-développés » qui ne possèdent que la possibilité de déplacement des grains de mélanine à l'intérieur de la cellule qui ne se déforme pas.

Par contre il persiste deux problèmes, ce sont ceux des rapports existant entre le mélanocyte d'une part, et d'autre part soit le mastocyte soit la cellule de Langerhans. La meilleure connaisance que nous avons du mélanocyte, nous permet donc maintenant d'envisager l'étude de ces problèmes.

A. — *LE PROBLEME MASTOCYTE/MELANOCYTE*

Quels rapports y a-t-il entre ces deux cellules ?

Okun [172] à la suite d'une étude au microscope électronique est en faveur d'une filiation entre mastocytes et mélanocytes. Ils seraient issus d'une même lignée conjonc-

tive. Les cellules contiennent fréquemment les granulations des mélanocytes et des mélanines. D'autre part, les mastocytes sont souvent dopa-positifs.

PAGES P. et A. plaident en faveur d'interférences entre les métabolismes respectifs de ces deux éléments. Le cycle mastocytaire de Riley serait une réalité concrète qui rejoint dans l'organisation le réseau trophopigmentaire de Riley.

OKUN et coll. [174] réalisent l'étude des relations histogénératiques entre mastocytes et mélanocytes. Il montre l'aptitude des mastocytes à produire de la mélanine, ce à partir de résultats obtenus sur plusieurs tissus. Il a montré la présence des enzymes caractéristiques : dopaoxydase, peroxydase, phosphatase acide. Il a aussi souligné la parenté entre les deux types de cellules chez l'embryon et chez l'adulte.

DADOUNE et coll. [62] amènent des données ultrastructurales en faveur de l'absence de relations histogénétiques entre mélanocytes et mastocytes. Les granules mastocytaires ont une individualité ultrastructurale et leur présence est spécifique de la cellule considérée. Il fait remarquer par ailleurs, que l'ubiquité des mastocytes retrouvés dans les différents prélèvements humains examinés s'oppose à la répartition topographique relativement limitée des mélanocytes.

C'est pourquoi DADOUNE met fin là à une controverse désormais inutile et sans objet. Il n'en va pas de même au sujet de la cellule de Langerhans puisque deux « Ecoles » poursuivent parallèlement des travaux contradictoires.

B. — *LE PROBLEME DES RAPPORTS ENTRE CELLULE DE LANGERHANS ET MELANOCYTE*

1° *Arguments embryologiques quant au problème de l'origine de ces cellules.*

— *Origine mélanocytaire.* C'est bien sûr cette origine qui semble la plus probable a priori. C'est pourquoi celle-ci a d'abord été proposée par RILEY [207], MASSON, BILLINGHAM et MEDAWAR (cités par BREATHNACH) [39].

— *Origine : les macrophages.* KONDO [122] à la suite d'études au microscope électronique a mis en évidence deux types de macrophages dans les ganglions lymphatiques. L'un d'eux a une faible activité phagocytaire et de nombreux caractères similaires à ceux des cellules de Langerhans. Ainsi

celles-ci pourraient dériver des macrophages des ganglions lymphatiques.

— *Origine nerveuse.* ZELICKSON [271] montre que la cellule de Langerhans ne semble pas être une cellule nerveuse : alors que FERREIRA-MARQUES (cité par SHUKLAJ [79] et RICHTER penchaient pour une structure nerveuse produite *de novo.*

BREATHNACH [40, 39] s'appuyant sur des arguments embryologiques expérimentaux, stipule que l'origine de cette cellule n'est pas nerveuse puisqu'elle ne dérive pas de la crête neurale.

JINBOW et coll. [120] reconnaît qu'elle a des rapports avec les mélanocytes et les macrophages, mais que par contre elle appartiendrait à un système différent des mélanocytes.

De même BREATHNACH [39] élimine l'hypothèse d'origine schwannienne des cellules de Langerhans toujours sur la foi de son travail sur la crête neurale.

— *Origine histiocytaire.* BASSET et coll. [10, 11, 12] (cités par BREATHNACH) a émis l'hypothèse de l'origine histiocytaire des cellules de Langerhans et ce en raison de ses travaux sur l'histiocytose.

2° *Arguments de localisation.*

Etant donné la localisation préférentielle des mélanocytes épidermiques et des cellules de Langerhans, on est tenté de croire que ces cellules ne sont qu'une même entité.

Cependant BREATHNACH [39] fait remarquer que contrairement à ZELICKSON [271] il n'a pu retrouver de cellules de Langerhans dermiques.

3° *Arguments morphologiques.*

SHUKLA [227-228] et LEVIS [133] s'appuient sur des mesures morphologiques statiques pour déterminer que la cellule de Langerhans dérive du mélanocyte. En cela, ils abondent dans le sens de MASSON et de BILLINGHAM et MEDAWAR. Ils confirment d'ailleurs tous deux l'existence de la cellule intermédiaire de Billingham et Medawar ainsi que la cellule claire de Masson.

4° *Arguments structuraux et ultrastructuraux.*

Au cours de l'étude systématique du mélanocyte, nous avons signalé les points communs entre ces deux cellules.

De même, nous avons souligné leurs différences. Nous avons vu qu'ils sont totalement différents du point de vue ultrastructural. Qui plus est, ne possèdent beaucoup de ces granules que les cellules qui se trouvent dans les couches supérieures de l'épiderme.

5° *Arguments physiologiques.*

Il s'agit bien là de considérer le rôle de la cellule de Langerhans.

— *D'après* BREATHNACH et WILLIE [41] les cellules de Langerhans sont capables de phagocyter les granulations de mélanine. Cependant, la production de ces granulations par les cellules reste à prouver.

— RILEY [207] pense que mélanocyte et cellule de Langerhans appartiennent à la même population épidermique de cellules à dendrites. Il fait remarquer que les deux sont capables de division mais que seules les secondes peuvent migrer en dehors de la couche sous-épidermique.

— BREATHNACH [39] pense qu'elles peuvent avoir une influence sur les attaches interkératinocytes (substance ciment et desmosomes) et par là sur le mécanisme général de la montée cellulaire vers la surface. En effet, leur capacité apparente de phagocyter des parties de cytoplasme des kératinocytes doit certainement aider au relâchement des connections intercellulaires et la présence de lysosomes pourrait bien être en rapport avec un tel processus. RILEY [206] a fait remarquer que les conditions de l'hydrolyse de l'A.T.P. par les cellules de Langerhans correspondent avec celles de la myosine ATPase ce qui confirme encore une relation possible avec la motilité cellulaire. Quant à la signification des autres activités enzymatiques qui ont été démontrées dans les différentes espèces animales, il n'est pas possible d'en déduire des conclusions.

6° *Arguments histologiques.*

En fait, c'est à partir de ces arguments que le problème s'est posé pour la première fois.

Ainsi, *les préparations à l'hématoxyline et à l'éosine* montrent les cellules de Langerhans comme des « cellules claires » avec un noyau intensément coloré, entouré d'un cytoplasme « clair ».

La coloration au chlorure d'or est la base de la polémique, car la cellule de Langerhans est auriphile alors que le mélanocyte est argentaffine. Cette coloration, ainsi que celle à l'iodure d'osmium et même celles au bleu de méthylène

et au bleu de crésyl brillant, permettent d'étudier le périkaryon.

Les techniques histoenzymatiques montrent que la réactions à la Dopa est négative, au contraire du mélanocyte. La réaction à l'ATPase permet une estimation de la densité de population en cellules de Langerhans par unité de surface de la peau. Ainsi WOLFF et WINKELMANN [266] trouvèrent un nombre remarquablement constant (peau de cobaye) de 920 par millimètre carré de surface. La proportion respective de la cellule de Langerhans par rapport au mélanocyte serait donc de un pour un. Ceci abonde dans le sens de l'existence de relations entre ces deux types de cellules.

Les cellules de Langerhans sont donc présentes dans les couches suprabasales de l'épithélium, où elles peuvent être mises en évidence par l'imprégnation aurique, mais leur signification est multiple. Elles sont en effet interprétées différemment, soit :

— comme des éléments nerveux, récepteurs, définissant ce que l'on appelle « système sensitivum intraepidermicum », responsable de la réception de stimuli douloureux (FERREIRA-MARQUES) [79] ;

— comme des lymphocytes (ANDREW et ANDREW) [1] ;

— comme des mélanocytes siège de processus régressifs et en voie d'exfoliation (MASSON [153], BILLINGHAM [27], BILLINGHAM et MEDAWAR [28], FAN et coll. [78], MISHIMA [163] et SHUKLA [227] ;

— comme participant d'un système neurovégétatif ou neuro-hormonal de la peau (RICHTER [204], NIEBAUER [169], WIEDMAN [262] ;

— comme des histiocytes anormaux (BASSET et coll., cité par BREATHNACH [10, 11, 12] et même comme des histiocytes normaux.

En conclusion, il semble à l'heure actuelle que l'on puisse considérer les cellules de Langerhans comme des cellules dégradées, fatiguées, usées, provenant des mélanocytes par les cellules intermédiaires de Billingham et Medawar.

Toutefois il faut suivre attentivement les recherches sur les histiocytes. Car si la non parenté nerveuse et schwannienne est confirmée cela signifierait dans ce cas et dans ce cas seulement, que la cellule de Langerhans représenterait une entité histologiquement différente du mélanocyte.

Vu : *Le Professeur de l'Ecole Vétérinaire,*
Rapporteur,
G. VAN HAVERBEKE

Vu : *Le Directeur de l'Ecole Vétérinaire,*
R. FLORIO.

Vu : *Le Président de la Thèse,*
J. BROUSSY

Vu et permis d'imprimer :
Toulouse le 21 février 1972

Le Président de l'Université Paul-Sabatier,
L. LARENG.

BIBLIOGRAPHIE

1 ANDREW (W.), ANDREW (N.Y.). — Anat. Rec. 1949, 104, 217-241.

2 BADEN (H.P.), SZABO (G.) et COHEN (J.). — Nature Lond. 1966, 211, 5 053, 1 095.

3 BAER (J.G.). — Anatomie Comparée des Vertébrés. Masson-Griffon Ed. 1965, 207.

4 BALOGH (K.). — Feder. Proc. U.S.A. 1965, 24, 2 part I, 432.

5 BARKA (T.) et ANDERSON (P.J.). — Histochemistry. Hoeber Med. Division. Harper and Row Ed. New York 1963.

6 BARLOW (R.). — Sitzber Ges. Morphol. Physiol 1894, 10, 47.

7 BARNES (R.B.), GORE (R.C.), LIDDEL (H.) et WILLIAMS (V. Z.). — Infrared streptroscopy. Reinhold Publishing Corporation Ed. New York 1944.

8 BARNICOT (N.A.) et BIRBECK (C.). — The biology of hair growth Acad. Press New York. Montagna et Ellis Ed. New York 1944.

9 BARRENSHEN (H.K.), PRING. — Biochem. Z. 1936, 285, 130.

10 BASSET (F.) et TURIAF (P.). — C.R. Acad. Sci. Paris 1965, 261, 3 701-3 703.

11 BASSET (F.), NEZELOF (C.), MALLET (R.) et TURIAF (J.). — C.R. Acad. Sci. Paris 1965, 261, 5 719-5 720.

12 BASSET (F.) et NEZELOF (C.). — Bull. Soc. Méd. Hôp. Paris 1966, 413-426.

13 BEER (R.J.S.). — Communication personnelle citée par Mason in Pigment cell. growth. Academic Press New York. Myron Gordon Ed. New York 1951.

14 BEER (R.J.S.), BROWN (J.P.) et ROBERTSON (A.). — J. Chem. Soc. 1951, 2 426.

15 BEER (R.J.S.), CLARKE (K.), DAVENPORT (H.F.) et ROBERTSON (A.). — J. Chem. Soc. 1951, 2 029.

16 BEER (R.J.S.), CLARKE (K.), KHORANA (H.G.) et ROBERTSON (A.). — J. Chem. Soc. 1948, 2 223.

17 BEER (R.J.S.), CLARKE (K.), KHORANA (H.G.) et ROBERTSON (A.). — Nature 1948, 161, 525.

18 BEER (R.J.S.), McGRATH (L.), ROBERTSON (A.) et WOODIER (A.B.). — J. Chem. Soc. 1949, 2 061.

19 BEHRE (E.H.). — Science. 1935, 81. 292-293.

20 BERTRAND (G.). — Bull. Soc. Chim. 1894, 3, 11.

21 BERTRAND (G.). — Bull. Soc. Chim. 1894, 3, 17.

22 BERTRAND (G.). — Compt. Rend. 1894, 118, 1215.

23 BERTRAND (G.). — Compt Rend. 1895, 120, 266.

24 BERTRAND (G.). —Compt. Rend. 1896, 122, 1205.

25 BERTRAND (G.). — C.R. Soc. Biol. 1896, 120, 266.

26 BIKLE (D.), TILNEY (L.G.) et PORTER (K.R.). — Protoplasma. Osterr. 1966, 6, 3-4, 322-345.

27 BILLINGHAM (R.E.). — J. Anat. 1949, 83, 109-115.

28 BILLINGHAM (R.E.) et MEDAWAR (P.B.). — Phil. Trans. B. 1953, 237, 151-171.

29 BIRBECK (M.S.C.). — Brit. Med. Bull. 1962, 18, 220-222.

30 BIRBECK (M.S.C.). — Ann. New York Acad. Sci. 1963, 100, 540-547.

31 BIRBECK (M.S.C.) et BARNICOT (N.A.). — Pigment Cell. Biology. Acad. Press. New York. M. Gordon Ed. New York 1959, 549.

32 BIRBECK (M.S.C.), BREATNACH (A.S.) et EVERALL (J.D.). — J. Invest. Dermatol 1961, 37, 51.

33 BIRBECK (M.S.C.). — Cité par Wolff (K.) [265].

34 BIZZOZERO (E.). — Münch. Med. Wschschr. 1908, 55, 2140.

35 BLOCH (B.). — Das pigment. Springer Ed. Berlin 1926.

36 BLOCH et SCHAAF. — Biochem. Zschr. 1926, 162, 181-206.

37 BOKUCHAVA (M.A.). — Chem. Abstr. 1948, 42, 7841.

38 BONSE (A.). — Ztschr. Zellforsch. 1963, 60, 504-517.

39 BREATNACH (A.S.). — Arch. Biochim. Cosmetol. Fr. 1968, 108, 11-19.

40 BREATNACH (A.S.), SILVERS (W.K.), SMITH (J.) et HEYNER (S.). — J. Invest. Dermatol. US.A. 1968, 50, 2, 147-160.

41 BREATNACH (A.S.) et WILLIE (L.M.A.). — J. Invest. Dermatol. U.S.A. 1965, 45, 5, 401-403.

42 BRESCHET - 1821. Cité par Van Haverbeke [253].

43 BROWN, WARD, GRIFFIN. — J. Am. Chem. Soc. 1957, 79, 2647.

44 BROWN, WARD, GRIFFIN. — Pigment cell. biology. Acad. Press. New York Myron Gordon Ed. New York 1959.

45 BRUNET. — Mélanogénèse. Progress in the biological sciences in relation to dermatology. Book Univ. Press. Cambridge Ed. 1960.

46 BURNETT (J.B.), HOLSTEIN (J.T.) et QUEVEDO (W.C.J.). — J. Exp. Zool. U.S.A. 1969, 171, 3, 369-376.

47 BURTON (H.). — Chemistry et Industry. 1947, 23.

48 BURTON (H.) et DUFFIELD (J.A.). — Nature 1948, 161, 725.

49 CALIFARNO (L.). — Publ. Staz. Zool. Napoli 1933, 13, 239.

50 CHASE (H.B.). — J. Morphol. 1949, 84, 57-80.

51 CHEN (Y.M.) et CHAVIN (M.). — Experientia. Suisse 1968, 24, 4, 332-333.

52 CLARA (M.). — Mikroscopie. 1952, 7, 387.

53 CLARK (W.H.J.) et BRETTON (R.). — Lab. Invest. cité par Hori.

54 COHEN (G.N.). — Bull. Soc. Chim. Biol. 1946, 28, 104.

55 COHEN (G.N.). — Bull. Soc. Chim. Biol. 1946, 28, 107.

56 COHEN (G.N.). — Bull. Soc. Chim. Biol. 1946, 28, 354.

57 CONROY (J.D.). — Am. J. Vet. Res. 1970, 31, 2209-2223.

58 CREUSS (W.V.) et ALSBERG (C.L.). — J. Am. Chem. Soc. 1944, 56, 2115.

59 CREUSS (W.V.) et SUGIHARA (J.). — Arch. Biochem. 1948, 16, 39.

60 CULZONI (V.). — Atti. Soc. Ital. Sci. Veter. 1965, 18, 376-379.

61 CZAPEK (F.). — Biochemie der Pflanzen. G. Fischer Ed. Iena 1921, 475.

62 DADOUNE (J.P.), POIRIER (J.), ESCOUROLLE (R.) et ABELANET (R.). — C.R.Ass. Anatomistes Fr. 1968, 141, 774-781.

63 DALTON (H.C.). — Pigment cell growth. Acad. Press. New York, 1959, 17-25.

64 DANFORT (H.) et FOSTER. — J. Exptl. Zoöl. 1929, 52, 443-470.

65 DE CUVE (C.). — Ciba Found. Symp. Lysosomes p. I Little. Brown Ed. Boston, Massachusetts. 1963.

65 DE DUVE (C.). — Ciba Found. Symp. Lysosomes p. I Little. n° spécial Ier Congrès Intern Aquariologie 1960, 117.

67 DEMOPOULOS (H.B.) et YUEN (T.G.H.). — Am. J. Pathol. 1967, 50, 559.

68 DREYSEL (M.). — Verhandl. Dent. Dermatol. Ges. 1896, 5, 466.

69 DROCHMANS (P.). — Intern. Rev. Exptl. Pathol. 1963, 2, 357.

70 DROCHMANS (P.). — Structure et Control. Melanocyte. 6 th Internation. Pigment Cell. Conf. Sofia Bulgarie 1965. Springer Ed. 1966, 90-95.

71 DUBUY (H.G.), SHOWACRE (J.L.) et HESSELBACH (M.L.). — Ann. Acad. Sci. New York 1963, 100, 569-583.

72 DUBUY (H.G.), WOODS (M.W.), BURK (D.) et LACKEY (M.D.). — J. Nat. Cancer Inst. 1949, 9, 325-335.

73 DULIERE (W.L.) et RAPER (H.S.). — Biochem. J. 1930, 24, 259.

74 DU SHANE (G.P.). — Quart. Rev. Biol. 1943, 18, 109-127.

75 EASTLICK (H.L.). — Exptl. Zoöl. 1939, 82, 131-157.

76 EDWARDS et DUNTLEY. — Pigment cell growth. 1953, 149.

77 FALK (S.) et RHODIN (J.). — Proceedings of the Stocklom Conference on Electron Microscopy. Almgvist et Wiksell Ed. Stockolm sept. 1956, 213.

78 FAN (J.)., SCHOENFELD (R.) et HUNTER (R.). — J. Invest. Dermatol 1959, 32, 445-450.

79 FERREIRA MARQUES (J.). — Arch. Derm. Syph. 1951, 193, 191-250.

80 FIGGE (F.). — Spec. Publi. N. Y. Acad. Sci. 1948, 4, 405.

81 FITZPATRICK (T.B.), BECKER (S.W.J.), LERNER (A.B.) et MONTGOMERY (H.). — Science, 25 Août 1950, 112, 223-225.

82 FITZPATRICK (T.B.) et KUKITA (A.). — J. Invest. Dermatol. 1956, 26, 173-183.

83 FITZPATRICK (T.B.). et KUKITA (A.). — Biologie des cellules pigmentaires. Acad. Press. New York 1959.

84 FITZPATRICK (J.B.), QUEVEDO (W.C.). Jr., LEVENE (A.L), GOVERN (W.J.), MISHIMA (Y.) et OETTLE (A.G.). — Science U.S.A. 1966, 152, 3 718, 88-89. Nomenclature et définitions adoptées lors de la VI° Conférence internationale sur les cellules à pigments. Sofia Bulgarie. Mai 1965, 23-25.

85 FLESCH (P.). — J. Soc. Cosmet. Chemists U.S.A. 1970, 21, 2, 77-83.

86 FLICKINGER (R.A.) Jr. — J. Exptl. Zoöl. 1949, 112, 465-484.

87 FOX (D.L.). — Spec. Publ. NY Acad. Sci. 1948, 4, 309.

88 FUJII (R.). — Structure & Control of the Melanocyte, Sofia 1965. Springer Ed. 1966, 114-123.

89 FUJII R.). — Annat. Zool. Jap. 1966, 39, 4, 185-192.

90 GABE (M.). — Techniques histologiques. Masson Ed. 1968, 579-583.

91 GANTER (P.) et JOLLES (G.). — Histochimie normale et pathologique. Gauthier-Villars Ed. 1971, 2 tomes, 1 827 p.

92 GESSARD (C.). — C.R. Acad. Sci. Paris 1903, 136, 1 086-1 088.

93 GIROUD (A.), LE BLOND (C.P.) et RABINOWICZ (M.). — C.R. Soc. Biol. 1934, 115, 1 088.

94 GOLODETZ (L.) et UNNA (P.G.). — Monatsh. Prakt. Dermatol. 1909, 48, 149.

95 GREEN (D.E.) et TICHTER (D.). — Biochem. J. 1937, 31, 596.

96 GREENSTEIN (J.P.). — Publ. New York Acad. Sci. 1948, 4, 433-435.

97 GREENSTEIN (J.P.), TURNER (F.C.) et JENRETTE (W.V.). — J. Natl. Cancer Inst. 1940, 1, 377.

98 GREENSTEIN (J.P.), WERNE (J.), ESCHENBRENNER (A.B.) et LEUTHARDT (F.M.). — J. Nat. Cancer Inst. août 1944, 5, 55-76.

99 GREEP - 1960 - Cité par Poirier et Nunez-Dispot [188].

100 HACHMANN (R.H.), PRYOR (M.G.M.) et TODD (A.R.) - Biochem. J. 1948, 43, 474.

101 HADLEY (M.E.) et QUEVEDO (W.C.) Jr. — Nature Lond. 1966, 209, 5 030, 1 334-1 335.

102 HAMA (T.) et HIYAMA (Y.). — Proc. Jap. Acad. 1966, 42, 8, 929-933.

103 HARDY (M.H.). — J. Anat. 1949, 83, 364-384.

104 HARLEY-MASON (J.). — Experientia 1948, 4, 307.

105 HARLEY-MASON (J.). — J. Chem. Soc. 1948, 1 244.

106 HARLEY-MASON (J.). — J. Chem. Soc. 1950, 1 276.

107 HARLEY-MASON (J.) et BU'LOCK (J.D.). — J. Chem. Soc. 1951, 2 248.

108 HEMPEL (K.). — Structure and Control of the Melanocyte. Springer Ed. Berlin, Heidelberg. Della Porta et Mûhlbock Ed. New York 1966, 162-175.

109 HENKIND (P.). — Nature Lond. 1967, 214, 5 095, 1 349-1 351.

110 HENKING (P.) et JAY (B.). — J. Anat. G.B. 1966, 100, 1, 139-145.

111 HERTWIG et ROOESLE - Cités par Van Haverbeke [253].

112 HIERMAN (P.). — C.R. Soc. Biol. 1937, 126, 1°264.

113 HOGEBOOM (G.H.) et ADAMS (H.P.). — J. Biol. Chem. Sept. 1942, 145, 273-279.

114 HOLMDAHL (D.E.). — Z. Mikroskop. Anat. Forsch. 1928, 14, 99-298.

115 HOLTFRETER (J.). — Arch. Zellforsch. Gewebezücht. 1939, 23, 169-209.

116 HORI (Y.), TODA (K.), PATHAK (M.A.), CLARK (W.H.) Jr et FITZPATRICK (T.B.). — J. Ultrastruc. U.S.A. 1968, 25, 1-2, 109-120.

117 HORSTADIUS (S.). — The neural crest. III p. Oxford University Press, London 1950.

118 HUECK (W.). — Beitr. Pathol. Allgem. Pathol. 1912, 54, 68.

119 JARRET (A). — Arch. Biochem. Cosmetol. Fr. 1969, 12, 115, 11-22.

120 JINBOW (K.), SATO (S.) et KUKITA (A.). — J. Invest. Dermatol. U.S.A. 1969, 2, 177-180.

121 KLENCK. — Cité par Van Haverbeke [253].

122 KONDO (Y.). — Z. Zellforsch. Mikr. Anat. Dtsch. 1969, 98, 4, 506-511.

123 KUKITA (A.) et FITZPATRICK (T.B.). — J. Invest. Dermatol. 1957, 28, 4, 273-274.

124 LAMB (J.) et SREERANGACHAR (H.B.). — Biochem. J. 1940, 24 B, 1472.

125 LANGERHANS (P.). — Virchows Arch. Pathol. Anat. Physiol. Klin. Med. 1868, 44, 325.

126 LAXER (G.), SIKORSKI (S.), SHEWELL (C.S.) et WOODS (H.J.). — Biochem. Biophys. Acta 1954, 15, 174-185.

127 LEA (A.). — Nature 1945, 156, 7, 428-429.

128 LEA (A.). — Arch. Pathol. 1949, 47, 211.

129 LEDBETTER (M.C.) et PORTER (K.R.). — J. Cell. Biol. 1963, 19, 239-250.

130 LEDBETTER (M.C.) et PORTER (K.R.). — Science 1964, 144, 872-874.

131 LERNER (A.B.) et FITZPATRICK (T.B.). — Pigment cell growth. 1953, 319.

132 LERNER (A.B.), FITZPATRICK (T.B.), CALKINS (E.) et SUMMERSON (W.H.). — J. Biol. Chem. 1950, 187, 793-802.

133 LEVI (A.C.) — Acta Anat. Suppl. Suisse 1969, 73, 56, 267-273.

134 LIGNAC (G.O.). — Centr. Allgem. Pathol. Anat. 1921, 32, 201.

135 LILLIE (R.D.). — Histopathologic technic and practical histochemistry. 2nd ed. Mc Graw-Hill Ed. New York 1954.

136 LILLIE (R.D.). — J. Histochem. Cytochem. 1955, 3, 453.

137 LILLIE (R.D.). — J. Histochem. Cytochem. 1956, 4, 118.

138 LILLIE (R.D.). — Stain Technol. 1956, 31, 151.

139 LILLIE (R.D.). — Arch. Pathol. 1957, 64, 100.

140 LILLIE (R.D.). — J. Histochem. Cytochem. 1957, 5, 325.

141 LISON (L.). — Histochimie et Cytochimie Animales. Gauthier-Villar Ed. 1960. 2 vol.

142 MACHIDA (H.) et PERKINS (E.M.) Jr. — Adv. Biol. Skin G.B. 1967, 8, 41-58

143 MAGNANI (E.). — J. Cell. Biol. 1965, 23, 173-182.

144 MASON (H.S.). — J. Biol. Chem. 1947, 168, 433.

145 MASON (H.S.). — Spec. Publi. N.Y. Acad. Sci. 1948, 4, 399.

146 MASON (H.S.) J. Biol. Chem. 1948, 172, 83.

147 MASON (H.S.). — Pigment cell. growth. Academic Press New York 1953, 277-305.

148 MASON (H.S.). — Pigment cell biology. Academic Press New York 1959, 563-582.

149 MASON (H.S.), KALLER (H.), Mac CARDLE (R.C.) et DALTON (A.J.). — Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 1947, 66, 421.

150 MASON (H.S.) et LADA (A.). — Federation Proceedings 1952, 11, 254.

151 MASON (H.S.) et WRIGHT (C.I.). — J. Biol. Chem. 1949, 180, 235.

152 MASSON (P.). — Diagnostics histologiques. Maloine Ed. Paris 1923.

153 MASSON (P.). — Spec. Publi. N.Y. Acad. Sci. 1948, 4, 15

154 MASSON (P.). — Tumeurs humaines. 2e éd. Maloine Ed. Paris 1956.

154 bis MAUL (G.G.). — 36th Ann. Meeting Electron. Micr. Soc. Amer. N. Orléans Proc. 1968. Baton Rouge Lo. Claitor's Publishing Div. 1968, 148-149.

155 MEIROWSKY (E.). — Origin of melanotic pigment of skin and eye. W. Klinkhardt Ed. Leipzig. Germany 1908.

156 MEIROWSKY (E.) et FREEMAN (L.W.). — J. Invest. Dermatol. 1951, 16, 257-260.

157 MIESCHER (G.). — Arch. Dermatol Syphil. 1922, 139, 313.

158 MILLIOTT (N.) et LYNN (W.G.). — Nature Lond. 1966, 209, 2 018, 101.

159 MISHIMA (Y.). — J. Invest. Dermatol. 1960, 34, 355.

160 MISHIMA (Y.). — J. Histochem. 1964, 12, 784-790.

161 MISHIMA (Y.). — J. Invest. Dermatol. 1966, 46, 70.

162 MISHIMA (Y.). — Nature 1967, 216, 5 110, 67.

163 MISHIMA (Y.). et MILLER MILINSKA (A.). — J. Invest. Dermatol. 1961, 37, 107-120.

164 MIYAMOTO (M.) et FITZPATRICK (T.B.). — Science 1957, 126, 449-450.

165 MOYER (F.H.). — Ann. New York Acad. Sci. 1958, 100, 529-538.

166 NAGAI (I.). — J. Agr. Research 1921, 28, 1 243.

167 NAGAI (I.). — J. Coll. Agr. Imp. Univ. Tokyo 1921, 8, 1.

168 NELSON et DAWSON. — Interscience Publishers Ed. New York 1944.

169 NIEBAUER (G.). — Hautarzt 1956, 7, 123-126.

170 NOVIKOFF (A.B.). — Ciba Found. Symp. Lysosomes. Little Brown Ed. Boston Massachusetts 1963, 36.

171 OBERNDORFER (S.). — Ergeb. Allgem. Pathol. 1921, 19, 47.

172 OKUN (M.R.). — J. Invest. Dermatol. U.S.A. 1965, 44, 5, 285-299.

173 OKUN (M.R.), EDELSTEIN (L.M.), NURORHAMADA (G.) et DONNELAN (B.). — J. Invest. Dermatol. U.S.A. 1970, 55, 1, 1-12.

174 OKUN (M.R.), GROB (P.), EDELSTEIN (L.) et LEVER (W.F.). — Hautarzt. Dtsch. 1967, 18, 11, 489-496.

175 ONSLOW (M.W.). — Principles of plant biochemistry. Cambridge University Press. 1931, 130.

176 PAGES (P.) et PAGES (A.). — Ann. Histochim. Fr. 1963, 8, Suppl. 1, 227-232.

177 PARAKKAL (P.F.). — J. Cell. Biol. U.S.A. 1967, 35, 2, 1, 473-477.

178 PEARSE (A.G.E.). — Histochemistry, Theoretical and Applied. 2nd ed. Little, Brown Ed. Boston 1960.

179 PEARSE (A.G.E.). — Histochemistry. 2nd ed. Churchill Ed. London 1961.

180 PEHLEMANN (F.W.). — Naturwissenschaften Dtsch. 1966, 53, 8, 207.

181 PEHLEMANN (F.W.). — Zoöll. Anz. Suppl. Dtsch. 1967, 30, 571-580.

182 PIATELLI (M.), FATTORUSSO (E.), MAGNO (S.) et, NICOLAUS (R.A.). — Tetrahedron 1962, 18, 941-949.

183 PIATELLI (M.), FATTORUSSO (E.), MAGNO (S.) et NICOLAUS (R.A.). — Tetrahedron 1963, 19, 2 061-2 072.

184 PIETTRE (M.). — C.R. Soc. Biol. 1911, 153, 782.

185 PIETTRE (M.). — C.R. Soc. Biol. 1911, 153, 1 037.

186 Pigment Cell Growth. 3rd Conference on the Biology of normal & Atypical Pigment Cell Growth Academic Press, New York 1953.

187 PLUMMER (J.I.) et KOPAC (M.J.). — Pigment cell growth. Acamedic Press New York 1953, 305-316.

188 POIRER (J.) et NUNEZ-DISPOT Mme (Ch.). — La Presse Médicale 18 mai 1968, 76, 24, 1 179-1 181.

189 PONOMARYOVA (V.N.). — Structure and control of the Melanocyte. 6th International Pigment cell Conf. Sofia Bulgarie 1965. Springer Ed. Berlin, Heidelberg, New York 1966, 90-95.

190 PORTER (K.R.). — Ciba Found Symp. Princ. Biomolec. Organiz. London 1965. Condon & Churchill Ed. 1966, 308-356.

191 POWER (F.B.) et BROWNING (H.). — J. Chem. Soc. 1914, 105, 1 829.

192 PRASAD (K.N.) et JAMUAR (M.P.). — Nature Lond. 1968, 217, 5 133, 1 067-1 069.

193 PRYOR (M.G.M.). — Proc. Roy. Soc. London 1940, 128 B, 393.

194 PRYOR (M.G.M.), RUSSEL (P.B.) et TODD (A.R.). — Biochem. 1946, 40, 267

195 PRYOR (MG.M.), RUSSEL (P.B.) et TODD (A.R.). — Nature 1947, 159, 399

196 RANDALL (H.M.), FOWLER (R.G.), FUSON (N.) et DANGL (J.R.). — Infrared determination of organic structure. D. Van Nostrand C° Ed. New York 1949.

197 RAPER (H.S.). — Biochem. J. 1927, 21, 89.

198 RAPER (H.S.). — J. Chem. Soc. 1938, 125.

199 RAWLES (M.E.). — Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 1940, 26, 673-680.

200 RAWLES (ME.). — Physiol. Zoöl. 1944, 17, 167-183.

201 RAWLES (M.E.). — Physiol. Zoöl. 1947, 20. 248-266.

202 RAWLES (M.E.). — Physiol. Rev. 1948, 28, 383-408.

203 RAWLES (M.E.). — Pigment cell growth - Acamademic Press New York 1953, 1-12.

204 RICHTER (R.). — Arch. Klin. Exp. Derm. 1956, 202, 466-565.

205 RILEY (P.A.). — Brit. J. Dermatol. 1966, 78, 2, 551-571.

206 RILEY (P.A.). — J. Invest. Dermatol. 1966, 47, 412-420.

207 RILEY (P.A.). — Brit. J. Dermatol. G.B. 1967, 79, 1, 528.

208 RIS (H.) — Physiol. Zoöl. 1941, 14, 48-66.

209 RITTENHOUSE (E.W.). — Dissert. Abstr. U.S.A. 1965, 26, 5, 2 936-2 937.

210 ROBERTS (E.A.H.). — Advances in Enzymol. 1942, 2, 113.

211 ROBSON (N.C.) et SWAN (G.A.). — Structure and Control of the Melanocyte. Springer Ed. Berlin, Heidelberg. Della Porta and O. Mûhlbock Ed. New York 1966, 155-162.

212 ROPSHAW (H.J.). — Amer. J. of Physiol. 1933, 103, 535.

213 ROSE (G.). — Ann. N.Y. Acad. Sci. 1963, 100, 92.

214 ROSIN (S.). — Rev. Suisse Zool. 1943, 50, 485-578.

215 RUDKIN (G.O.) et NELSON (J.M.). — J. Am. Chem. Soc. 1947, 69, 1 470.

216 SANDO (C.E.). — J. Agr. Research 1924, 28, 1 243.

217 SANDO (C.E.) LLYOD (J.V.). — J. Biol. Chem. 1924, 58, 737.

218 SCHMALFUSS (H.), HEIDER (A.) et WINKELMAN (K.). — Biochem. Z. 1933, 257, 188.

219 SCULLICA (L.) et TANGUCCI (F.). — J. Microscopie 1968, 7, 1 085-1 092.

220 SEIJI (M.) et IWAHITA (S.). — J. Invest. Dermatol ; 1965, 45, 305-314.

221 SEIJI (M.), FITZPATRICK (T.B.) et BIRBECK (M.S.C.). — J. Invest. Dermatol. 1961, 36, 243-252.

222 SEIJI (M.), SHIMAO (K.), BIRBECK (M.S.C.) et FITZPATRICK (T.B.). — Ann. N.Y. Acad. Sci. 1963, 100, 497.

223 SERRA (J.A.). — Nature 1946, 157, 771.

224 SHANES (A.M.) et NIGRELLI (R.F.). — Zoologica 1941, 26, 237-240.

225 SHUKLA (R.C.). — Curr. Sci. India 1965, 34, 13, 406-407.

226 SHUKLA (R.C.). — Nature Lond. 1965, 207, 5 001, 1 102-1 103.

227 SHUKLA (R.C.). — Acta Anat. Suisse 1969, 73, 3, 372-388.

228 SHUKLA (R.C.). — Acta Morphol. Neerl. Scand. Pays-Bas 1970, 7, 3-4, 219-227.

229 SHUKLA (R.C.), KARKUN (J.N.) et MUKERJI (B.). — Curr. Sci. 1953, 22, 211.

230 SIMS (R.T.). — Quart. J. Micro. Sci. 1962, 103, 439.

231 SIZER (I.W.). — J. Biol. Chem. 1946. 163, 145.

232 SIZER (I.W.). — J. Biol. Chem. 1947, 169, 303.

233 SIZER (I.W.). — Science 1948, 108, 335.

234 SIZER (I.W.) et PROKESCH (C.E.). — J. Pharmacol. 1945, 84, 363.

235 SNELL (R.S.), SILVER (A.F.) et CHASE (H.B.). — Nature Lond. 1966, 210, 5 032, 219-220.

236 SOHAN SINGH JANDE. — Anat. Rec. U.S.A. 1966, 154, 3, 533-543.

237 SQUIER (C.A.) et WATERHOUSE (J.P.). — Arch. Oral. Biol. G.B. 1967, 12, 1, 119-129

238 STAUBLI (W.) et LOUSTALOT (P.). — Cancer Res. 1962, 22, 84-88.

239 Structure & Control of the Melanocyte (6th Int. Pigment Cell. Conference) Sofia Bulgarie, 25-29 May 1965. Della Porta Springer Ed. 1966.

240 SYNDERMAN (S.E.), NORTON et HOLT (L.E.) Jr. — Fed. Proc. 1955, 14, 450-451.

241 SZABO (G.). — Disc. nerv. Syst. U.S.A. 1968, 29, 3, Suppl. 58-62.

242 SZABO (G.) et COHEN (J.). — J. Cell. Biol. U.S.A. 1965, 27, 2, 118 A.

243 TARNOWSKI (W.M.). — Ultrastructure of the epidermal melanocyte dense plate. J. Invest. Dermatol. U.S.A. 1970, 55, 4, 265-268.

244 TAYLOR (A.C.). — J. Exptl. Zoöl. 1949, 110, 77-111.

245 THIERS (H.). — Encyclopédie Médicale. Dermatologie 1961, 10, 12 225 A 60, 1-8.

246 THINEY (Y.) et NOARS (R.). — Introduction à la Biologie des Ultrastructures Cellulaires. C.R.D.P. Lyon. (45 pages).

247 TRINKAUS (J.P.). — Pigment Cell. Growth Academic Press. Myron Gordon Ed. New York 1953, 73-89.

248 TUTIN (F.) et CLEWER (H.W.B.). — J. Chem Soc. 1914, 105, 1 845.

249 TWITTY (V.C.). — J. Exptl. Zoöl. 1944, 95, 259-290.

250 TWITTY (V.C.). — J. Exptl. Zoöl. 1945, 100, 141-178.

251 TWITTY (V.C.). — Growth, Symp. 1949, 9, 133-161.

252 UNNA (P.G.). — Biochemie der Haut. Fischer Ed. Iéna 1913.

253 VAN HAVERBEKE (G.). — Le Métabolisme des Pigments Mélaniques et ses Troubles. Thèse Doct. Vét. Lyon 1957.

254 VON FURTH et SCHNEIDER. — 1901 - Cités par Van Haver-Beke [253].

255 WAELSCH (H.). — Z. Physiol. Chem. 1932, 213, 35.

256 WASSERMANN (H.P.). — Nature Lond. 1967, 213, 5 079, 282-283.

257 WEEVERS (T.). — Rec. Trav. Botan. Néerland. 1910, 7, 61.

258 WEEVERS (T.). — Rec. Trav. Botan. Néerland. 1912, 9, 236.

259 WEISS (P.). — J. Exptl. Zoöl. 1945, 100, 353-386.

260 WEISS (P.). — Yale J. Biol. and Med. 1947, 19, 235-278.

261 WELLINGS (S.R.) et SIEGEL (B.V.). — J. Ultrastruct. Res. 1959, 3, 147-154.

262 WIEDMAN (A.). — Hautarzt 1963, 14, 60.

263 WILLIER (B.H.). — Spec. Pub. N.Y. Acad. Sci. 1948, 4, 321-340.

264 WINKELMANN (R.K.) et SCHMIT (R.W.). — J. Invest. Dermatol. 1960, 34, 289.

265 WOLFF (K.). — Cell. Biology 1967, 35, 2, pl, 468-473.

266 WOLFF (K.) et WINKELMANN (R.K.). — J. Invest. Dermatol. 1967, 48, 50-54, 504-513, 531-539.

267 WOODS (M.), BURK (D.) et HUNTER (J.). — Ann. N.Y. Acad. Sci. 1963, 100, 534-539.

268 WOODS (M.W.), DUBUY (H.G.), BURK (D.) et HESSELBACH (M.). — J. Nat. Cancer Inst. 1949, 9, 311-324.

269 WORONZOWA (M.A.). — Trans. Labo. Exptl. Biol. Zoo-Park Moscow 1928, 4, 81-105, 107-124.

270 YOSHIDA (H.). — J. Chem. Soc. 1883, 43, 472.

271 ZELICKSON (A.S.). — J. Invest. Dermatol. U.S.A. 1963, 44, 3, 201-212.

272 BALLOWITZ (E.). — Pflüger's - Arch. Ges. Physiol. 1914, 157, 165.